



Facultad de Ciencias

Máster en Biotecnología

Curso 2020/2021

Estudio mediante aproximación OSMAC del metabolismo secundario del microorganismo *Streptomyces sanyensis*, aislado de la Bahía de Cádiz

Departamento:

Química Orgánica

Autora:

Wendy Johanna Moreno Díaz

Tutoras:

Dra. Rosa María Durán Patrón

Dra. Josefina Aleu Casatejada

**Estudio mediante aproximación OSMAC del metabolismo secundario del
microorganismo *Streptomyces sanyensis*, aislado de la Bahía de Cádiz**

TRABAJO DE FIN DE MÁSTER

realizado en la

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD DE CÁDIZ

Memoria del Trabajo de Fin de Máster presentada por Wendy Johanna Moreno Díaz, para optar al
título del Máster en Biotecnología

Puerto Real, Febrero de 2021

Fdo. Wendy Johanna Moreno Díaz

Agradecimientos

Este Trabajo de Fin de Máster se ha desenvuelto en uno de los años más caóticos del siglo XXI, desarrollado en lo más álgido de la pandemia por coronavirus, mi agradecimiento general es a Dios quien proveyó de salud y resiliencia a cada una de las personas que estuvo relacionada con este proyecto.

En primera instancia, mi más sincera gratitud hacia mis tutoras las doctoras Rosa M^a Duran Patrón y Josefina Aleu Casatejada, por su gran caridad y paciencia, siendo además de directoras académicas, grandes maestras en lecciones de vida a través de la ciencia, riqueza que no sólo queda grabada en mi hoja de vida sino en mi ser como profesional. A las docentes de la asignatura CAR, las doctoras Ana María Simonet y M^a Jesús Ortega, quienes infundieron amor y conocimiento por medio de la asignatura, que fue clave durante el desarrollo del trabajo.

En segundo lugar, mis compañeros de máster y laboratorio, Imane El Kaddouri, Rosenda Carreño, Paloma Cabrera, Ivonne Suárez y Haroldo Ripardo, pues ellos y sus familias fueron soporte académico y emocional a lo largo del trabajo.

Por último, y no menos relevante citar en agradecimiento a todas las personas que de diferentes maneras dieron un aporte a este trabajo mediante la misericordia y apoyo que me brindaron durante toda esta travesía, mi familia Adriana y Héctor Díaz, Wilson, Humberto y Blanca Moreno Chaparro, Laura y Alexandra Pardo Moreno, amistades de las familias de Luisa Vergara Córdoba, Lilian Ortiz Arroyo, Nicole Arrieta Caldera, Nerissa Soto, Seneris Orozco, Rafael Buelvas, mi querida colega y docente Irina Tirado Ballestas, Fredys Sánchez, su madre Ruby Hoyos y familia, amigos como Andrea Reyes, Milenca Villa, Jack González, Lissett Boza, Geovany Lezcano, Belén Álvarez, Heidy Correa y Frank Zapata, mis caseros Ana Bellido y Bruto Pomeroy.

Me permito no sólo agradecer, sino dedicar este trabajo, pues, para un tiempo tan particular donde el modo de llevar la normalidad ha cambiado, su presencia y participación en mi vida en lo referente a la ejecución y redacción del documento fueron parte clave para su culminación, pues han sido parte de la salud, no sólo física, también mental, necesaria para cumplir con todas las competencias que el máster en Biotecnología amerita.

A todos quiénes por misericordia de Dios estuvieron a lo largo de este camino, mis más sinceros agradecimientos y todo mi cariño.

D^a. ROSA MARÍA DURÁN PATRÓN, PROFESORA TITULAR DE
UNIVERSIDAD

HACE CONSTAR:

Que el presente Trabajo Fin de Máster constituye la memoria que presenta la alumna Wendy Johanna Moreno Díaz para aspirar al título de Máster en Biotecnología, y ha sido realizado íntegramente en los laboratorios del Departamento de Química Orgánica de esta Universidad, bajo mi dirección. Y para que conste, expido y firmo el presente informe en Puerto Real, Cádiz, a 9 de Febrero de 2021.

Fdo.

D^a. JOSEFINA ALEU CASATEJADA, PROFESORA TITULAR DE
UNIVERSIDAD

HACE CONSTAR:

Que el presente Trabajo Fin de Máster constituye la memoria que presenta la alumna Wendy Johanna Moreno Díaz para aspirar al título de Máster en Biotecnología y ha sido realizado íntegramente en los laboratorios del Departamento de Química Orgánica de esta Universidad, bajo mi dirección. Y para que conste, expido y firmo el presente informe en Puerto Real, Cádiz, a 9 de Febrero de 2021.

Fdo.

CONTENIDO

1.	RESUMEN.....	1
1.	ABSTRACT.....	2
2.	INTRODUCCIÓN.....	3
3.	OBJETIVOS.....	8
4.	MATERIAL Y MÉTODOS.....	9
4.1.	Revisión bibliográfica.....	9
4.1.1.	Estrategia de búsqueda.....	9
4.1.2.	Criterios de selección de artículos.....	9
4.1.3.	Cribado de resultados.....	10
4.2.	Estudio metabolómico del actinomiceto <i>Streptomyces sanyensis</i>	11
4.2.1.	Cepa de estudio.....	11
4.2.2.	Medios de cultivo.....	11
4.2.3.	Aproximación OSMAC de <i>S. sanyensis</i>	13
4.2.4.	Fermentación a gran escala de <i>S. sanyensis</i>	14
4.2.5.	Análisis, purificación y elucidación de metabolitos secundarios.....	14
4.2.5.1.	Técnicas cromatográficas.....	14
4.2.5.2.	Resonancia Magnética Nuclear (RMN).....	16
5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	17
5.1.	Revisión bibliográfica.....	17
5.1.1.	Antiinfecciosos y antiparasitarios.....	18
5.1.2.	Antineoplásicos e inmunomoduladores.....	20
5.1.3.	Antiinfecciosos y antineoplásicos.....	21
5.1.4.	Enfermedades neurológicas.....	23
5.1.5.	Sistema músculo-esquelético.....	23
5.1.6.	Tracto alimentario y metabolismo.....	24

5.2.	Estudio metabolómico del actinomiceto <i>Streptomyces sanyensis</i>	25
5.2.1.	Aproximación OSMAC en <i>S. sanyensis</i>	25
5.2.2.	Fermentación a gran escala de <i>S. sanyensis</i>	28
5.2.3.	Purificación y elucidación de los metabolitos secundarios.....	29
5.2.3.1.	Fracción SSAC20.....	31
5.2.3.2.	Fracción SSAC30.....	32
5.2.3.3.	Fracción SSAC40.....	32
5.2.3.4.	Fracción SSAC50.....	33
6.	CONCLUSIONES	35
7.	PERSPECTIVAS DE FUTURO	36
8.	BIBLIOGRAFÍA	37
9.	PROPUESTA	50
10.	APENDICES	51

1. RESUMEN

El entorno marino ha sido reconocido por su riqueza ecosistémica y extensa variedad biológica, tanto en flora, fauna como microbiota. Además, cuenta con una amplia gama de condiciones físico-químicas que confluyen en un ambiente ideal para la síntesis de moléculas con actividades biológicas y potenciales aplicaciones, sobre todo a nivel industrial y clínico. A nivel biomédico, las grandes farmacéuticas ahondan arduamente en la caracterización de nuevos principios activos para distintos tipos de fármacos, en especial los medicamentos usados para el tratamiento de patologías de alto impacto a nivel poblacional y de mayor incidencia a nivel hospitalario, tales como antibióticos y antitumorales. En los últimos años se han desarrollado diversas estrategias para el descubrimiento de nuevos productos naturales crípticos, mediante la exploración y expresión de genes biosintéticos silenciados. Una de las estrategias más versátiles ha sido la aproximación OSMAC (*One Strain Many Compounds*), basada en la manipulación controlada y sistemática de las diferentes condiciones de cultivo microbiano (nutrientes, temperatura, salinidad, aireación, entre otros).

Para este trabajo de fin de máster se ha planteado la búsqueda de nuevos productos naturales con actividad farmacológica a partir del estudio metabolómico del actinomiceto *Streptomyces sanyensis*, aislado de sedimentos de la zona del intermareal de la Bahía de Cádiz. Con este fin, se ha llevado a cabo en primer lugar una revisión bibliográfica sobre metabolitos aislados a partir de distintas especies de *Streptomyces* de origen marino con actividad terapéutica, establecida según el sistema de clasificación por grupos terapéuticos de medicamentos, el código ATC (acrónimo de *Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system*). Los artículos han sido seleccionados bajo distintos criterios métricos y teóricos, con la ayuda de la herramienta de búsqueda bibliográfica *SciFinder* para la obtención de las estructuras de los metabolitos. Posterior a ello, se ha llevado a cabo un estudio mediante aproximación OSMAC del metabolismo secundario de *S. sanyensis*, que nos ha permitido seleccionar el medio de cultivo ISP2 y un tiempo de incubación del actinomiceto durante 14 días como las condiciones óptimas de cultivo que conducen a un mayor número de metabolitos. Finalmente se llevó a cabo una fermentación a gran escala de *S. sanyensis* bajo las condiciones determinadas, con el fin de obtener nuevos compuestos bioactivos que pudieran ser utilizados como compuestos cabezas de serie en el diseño y síntesis de nuevos fármacos. La extracción sólido-líquido del caldo de cultivo y la purificación de las fracciones más apolares mediante técnicas cromatográficas, nos condujo sin embargo a sustancias de bajo interés biológico.

1. ABSTRACT

The marine environment has been recognized for its ecosystem richness and extensive biological variety, both in flora, fauna and microbiota. In addition, it has a wide range of physical-chemical conditions that converge in an ideal environment for the synthesis of molecules with biological activities and potential applications, especially at an industrial and clinical level. At the biomedical level, large pharmaceutical companies delve hard into the characterization of new active ingredients for different types of drugs, in particular medicinal products used for the treatment of high-impact pathologies at the population level and with the highest incidence at the hospital level, such as antibiotics and antitumors. In recent years, various strategies have been developed for the discovery of new cryptic natural products, through the exploration and expression of silenced biosynthetic genes. One of the most versatile strategies has been the OSMAC (*One Strain Many Compounds*) approach, based on the controlled and systematic manipulation of the different microbial culture conditions (nutrients, temperature, salinity, aeration, among others).

For this master's degree project, the search for new natural products with pharmacological activity has been proposed from the metabolomic study of the actinomycete *Streptomyces sanyensis*, isolated from sediments of the intertidal zone of the Bay of Cadiz. To this end, a literature review on metabolites isolated from different species of *Streptomyces* of marine origin with therapeutic activity, established according to the system of classification by therapeutic groups of medicinal products, the ATC code (acronym for *Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system*). The articles have been selected under different metric and theoretical criteria, with the help of the bibliographic search tool *Sci Finder* to obtain the structures of metabolites. Subsequently, an OSMAC study of the secondary metabolism of *S. sanyensis* has been carried out, which has allowed us to select the ISP2 culture medium and an actinomycete incubation time for 14 days as the optimal culture conditions leading to a higher number of metabolites. Finally, a large-scale fermentation of *S. sanyensis* was carried out under the specified conditions, to obtain new bioactive compounds that could be used as standard head compounds in the design and synthesis of new drugs. The liquid solid extraction of the culture broth and the purification of the most apolar fractions by chromatographic techniques, however, led us to substances of low biological interest.

2. INTRODUCCIÓN

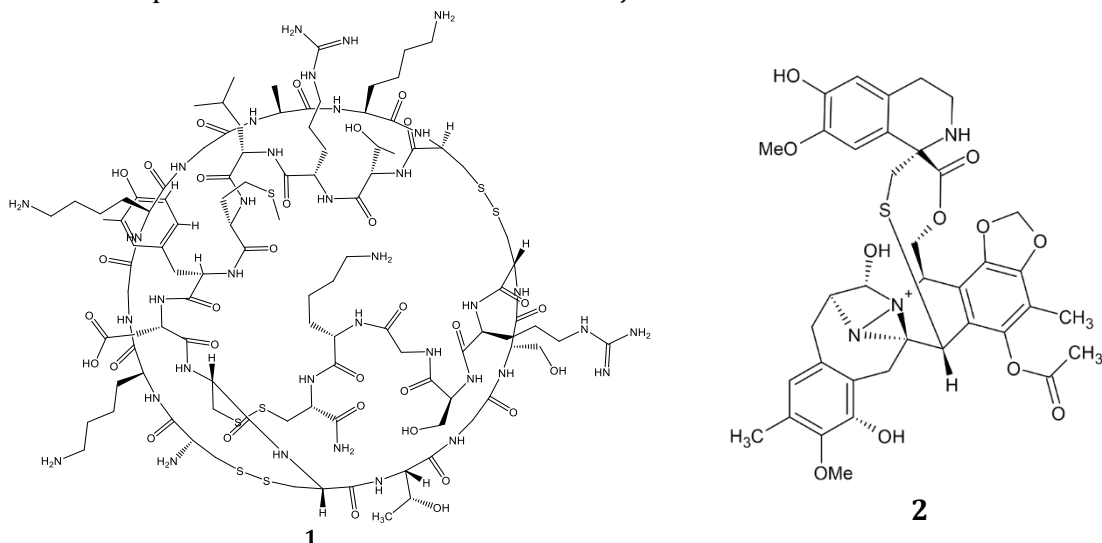
La riqueza biológica brindada por el ambiente marino se extiende en todas las áreas de la sociedad y la academia, desde su importancia turística e industrial para el ser humano, hasta llegar a ser el eje principal de la ecología acuática. Dentro de este ecosistema, se encuentra una de las mayores fuentes de riqueza biológica, a nivel de diversidad de organismos, y química dada la importante cantidad de moléculas aisladas a partir de ellos. A todos aquellos compuestos con relevante actividad biológica obtenidos a partir del metabolismo secundario de la fauna, flora y microbiota del medio marino se les conoce como productos naturales marinos (PNMs). Estos han sido considerados desde mediados del siglo XX como potenciales fuentes de moléculas de importancia terapéutica, industrial y agroalimentaria.¹⁻³

La relevancia del medio marino respecto al terrestre radica en las condiciones a las cuales se ven sometidos los organismos que habitan tales ecosistemas, principalmente de salinidad, temperatura y presión, lo que genera en los organismos una amplia gama de metabolitos con características estructuralmente únicas, que difieren considerablemente de los compuestos procedentes de organismos terrestres. Desde la década de los 70 hasta la actualidad, a nivel marino se han aislado numerosos macroinvertebrados (esponjas, corales), algas y microorganismos, a partir de los cuales se han hallado aproximadamente 22.000 compuestos bioactivos.^{1,4-6}

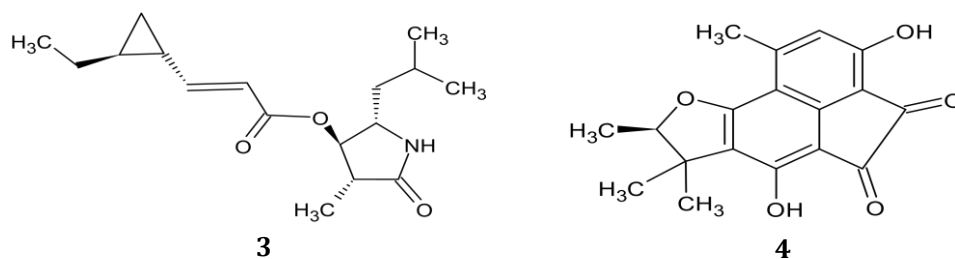
Ahora bien, dentro de los organismos marinos, los microorganismos representan el mayor porcentaje de la biomasa marina; su relevancia ecológica radica en que son el eslabón inicial de las cadenas alimentarias marinas, además de ayudar en el proceso de oxigenación acuática.⁷ En esta población destacan arqueobacterias, bacterias asociadas a esponjas, fotoautótrofos marinos (microalgas y cianobacterias), levaduras y microorganismos filamentosos, como hongos y actinobacterias. Las investigaciones sobre PNM a partir de microorganismos presentan ciertas ventajas con relación a los macroorganismos, como son una mayor versatilidad en la recolección de muestras, bajas implicaciones ecológicas (ya que en macroorganismos se ve necesario tomar cantidades mayores para obtener muestras representativas) y mayor facilidad para su reproducibilidad a nivel de laboratorio.²

Entre los primeros fármacos aislados del medio marino destacan los procedentes de macroorganismos, como es el caso de la ziconotida (ω -conotoxina MVIIA)⁸ (**1**) y trabectedina⁹ (**2**).

Ziconotida (**1**) es un péptido obtenido del caracol *Conus magus*, aprobado en 2004 por los Estados Unidos bajo el nombre comercial de Prialt como fármaco para el tratamiento del dolor crónico en la lesión de la médula espinal.¹⁰ El compuesto antitumoral trabectedina (**2**) (Yondelis/ecteinascidin-743 ET-743) aislado del tunicado *Ecteinascidia turbinata* fue aprobado por la Unión Europea en octubre de 2007 para el tratamiento del sarcoma de tejidos blandos.¹¹



En las últimas décadas la investigación se ha centrado en los microorganismos marinos, con más del 50% de las publicaciones de nuevos PNMs durante el año 2017¹² sobre moléculas con diversas actividades, sobre todo farmacológicas frente a diversas dianas biológicas. Entre ellas cabe destacar hoshinolactam (**3**), aislado de la cianobacteria *Oscillatoria* sp,¹³ para el tratamiento de enfermedades tropicales; antimicrobianos como cicloheximida, procedente de bacterias como *Bacillus amyloliquefaciens*¹⁴ y esclerodiona (**4**), que presenta actividad anti-proliferativa (anti-glioma), de la cepa fúngica marina *Penicillium* sp. ZZ901.¹⁵



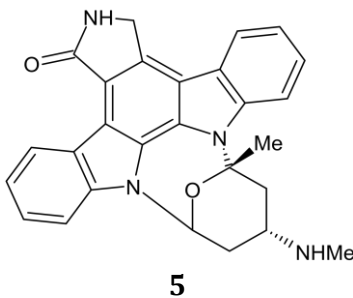
El filo *Actinobacteria* incluye bacterias Gram positivas, que se caracterizan por su similitud a los hongos, con estructuras bacilares de mayor tamaño respecto al resto de las bacterias y con crecimientos oscilantes entre levaduriformes y filamentosos. Alrededor del 10% de la población de actinobacterias marinas se ubica en regiones cercanas al trópico, donde se han identificado cerca de 220 géneros de “actinomicetos raros”, de los cuales más de 50 taxones son productores de 2.500

compuestos bioactivos, lo que representaría aproximadamente el 45% de las fuentes de moléculas con actividad biológica relevante, especialmente del género *Streptomyces*.^{5,16-18}

El marcado interés por los metabolitos biológicamente activos obtenidos a partir de estas bacterias surge como consecuencia del gran número de antibióticos aislados de actinobacterias terrestres.¹⁹ Aproximadamente el 70% de los metabolitos procedentes de actinobacterias son utilizados a nivel clínico como antimicrobianos,²⁰ antivirales,^{21,22} antifúngicos,²³ antipalúdicos (antimaláricos),²⁴ inmunosupresores,²⁵ antitumorales,²⁶ inhibidores enzimáticos,²⁷ antioxidantes²⁸ y fármacos citotóxicos.¹⁹

La relevancia de estos nuevos descubrimientos se enfoca al área biomédica, puesto que es de conocimiento común la gran necesidad de profundizar en la búsqueda de productos naturales con actividad farmacológica contra patologías de alta prevalencia, abarcando tanto enfermedades no transmisibles como infectocontagiosas, que requieren fármacos que, optimizando los regímenes terapéuticos, reduzcan sus efectos colaterales y el riesgo de la resistencia microbiana para los medicamentos con actividad antibiótica.^{29,30} De manera emergente, en los últimos años han acrecentado su auge las nanopartículas metálicas, habiéndose estudiado las actinobacterias como potenciales “biofactorías”³¹ de estos compuestos de importancia clínica y terapéutica.^{32,33}

Dentro de la flora microbiana explorada en la Bahía de Cádiz se han caracterizado varias cepas de actinobacterias, entre ellas *Streptomyces sanyensis*. Esta especie fue aislada por primera vez de sedimento de manglar en el año 2011. Biosintetiza alcaloides tipo indolocarbazoles (ICZ), como estaurosporina (**5**),³⁴ molécula que se caracteriza por su capacidad de inhibir proteínas claves (quinasas, topoisomerasas y transportadoras de unión a ATP) a nivel del ciclo celular. Este ICZ (**5**) también muestra actividad antiparasitaria frente a protozoos de importancia clínica, como *Acanthamoeba*³⁵ y *Leishmania*,³⁶ mediante la activación de la muerte celular programada a través de la vía mitocondrial en su estadio infectante (trofozoíto).



Respecto a lo expuesto anteriormente, una de las mayores ventajas en el uso de microorganismos radica en su riqueza genómica, que crea una base sólida para iniciar una “segunda edad de oro” en el descubrimiento de nuevos fármacos. Esto se fundamenta en el descubrimiento de rutas biosintéticas que difieren de manera significativa a las expresadas a nivel de laboratorio de manera tradicional, conducentes a nuevos metabolitos denominados crípticos a partir de genes silentes que se expresan mediante diferentes herramientas: bioinformáticas/matemáticas, genómicas, y experimentales, gracias a la alteración sistemática y controlada de condiciones de crecimiento.^{37,38}

Entre las principales técnicas para el descubrimiento de nuevos productos naturales crípticos mediante la exploración y expresión de genes silenciados se encuentra la aproximación OSMAC (*One Strain Many Compounds*). Esta técnica, usada preliminarmente por Zahner³⁹ y acuñada luego por Bode y colaboradores,^{40,41} se basa en la alteración controlada de los parámetros de cultivo, tales como componentes del medio (fuente de carbono, nitrógeno, salinidad, oligoelementos, metales), pH, aireación del cultivo (incluido el tipo de recipiente de cultivo utilizado), condiciones lumínicas y temperatura de crecimiento, entre otros.⁴² La optimización de las condiciones de cultivo se puede lograr mediante modificaciones de un solo factor o basarse en un enfoque estadístico que ayude a identificar de manera más eficiente y efectiva los parámetros correctos a manipular.⁴³

Dentro de las variaciones de la composición de los medios, se encuentra la consistencia de éste, habiéndose observado una producción diferencial en medios sólidos respecto a los líquidos. Un ejemplo de ello se aprecia en la variación de la producción de antibióticos en *Streptomyces* sp. USC-633 marino, al evaluar 11 variaciones de fuentes de carbono, tanto en medios sólidos (tapones de agar) como medios líquidos (alícuotas de caldos). Se comprobó la obtención de metabolitos mediante ensayos de actividad antimicrobiana de "difusión en el pozo" y de disco en papel contra 5 cepas de importancia clínica, observándose una mejor producción de metabolitos con actividad antibiótica para los medios sólidos contra las cepas de *Enterococcus faecalis* (ATCC 51575) y *Escherichia coli* Migula (ATCC 13706). De las moléculas obtenidas, las fracciones medias (no polares) manifestaron su actividad biológica de manera representativa contra *E. coli* Migula.⁴⁴

Una de las ventajas de la aproximación OSMAC radica en su facilidad de liberar la diversidad química derivada de la técnica (Figura 1), puesto que interviene de manera transversal en todas las etapas de formación biológica de los metabolitos secundarios, de manera complementaria a las estrategias químicas y biotecnológicas para la obtención de productos naturales.

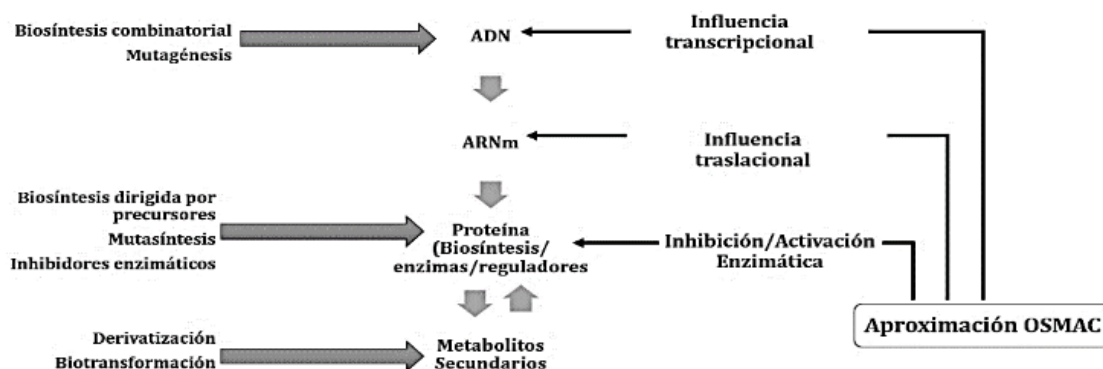
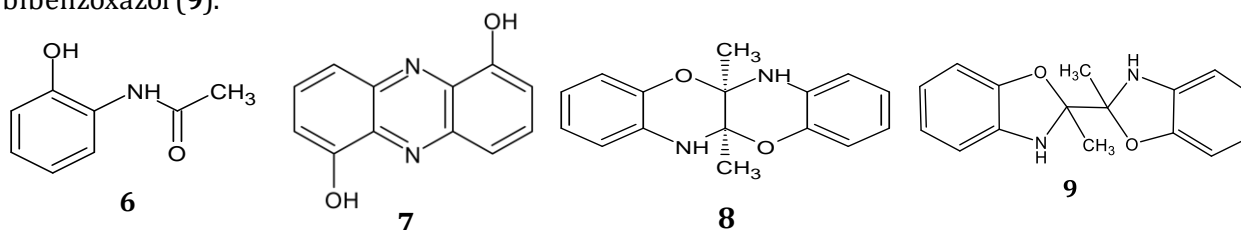


Figura 1. Vías de Influencia en la biosíntesis de Metabolitos Secundarios. (Adaptado⁴¹).

Por otra parte, para el descubrimiento de nuevos productos naturales crípticos destaca la técnica del co-cultivo, consistente en el cultivo mixto de microorganismos, ya sean hongos-hongos, hongos-bacterias o bacterias-bacterias, interacciones determinantes en la modulación de la biosíntesis de nuevas moléculas.⁴⁵ Un ejemplo de ello se aprecia en el co-cultivo de *Actinokineospora* sp. EG49 y *Nocardiopsis* sp. RV163,⁴⁶ que indujo la biosíntesis de cuatro productos naturales que no se detectaron en el cultivo de ninguno de los dos microorganismos por separado, N-(2-hidroxifenil)-acetamida (**6**), 1,6-dihidroxifenazina (**7**), 5 α ,6,11 α ,12-tetrahidro-5 α ,11 α -dimetil[1,4]benzoxazino[3,2- β][1,4]benzoxazina (**8**) y 2,2',3,3'-tetrahidro-2,2'-dimetil-2,2'-bibenzoxazol (**9**).



Existen también otras estrategias para estimular la biosíntesis de nuevos metabolitos secundarios, como es el uso de elicitadores químicos, que se han utilizado con éxito para aumentar la diversidad y la cantidad de los metabolitos producidos por un microorganismo específico.⁴⁷ Un ejemplo de ello se aprecia en la investigación realizada por Seyedsayamdost (2014),⁴⁸ quién demostró que las concentraciones subletales del antibiótico trimetoprima inducen la expresión de varios metabolitos especializados de clústeres en *Burkholderia thailandensis* E264.^{48,49}

Con base en lo anteriormente descrito, en el desarrollo del documento escrito se encuentra una ampliación de los PNMs derivados de actinobacterias del género *Streptomyces* spp con especial énfasis en aquellos metabolitos con actividad biomédica.

3. OBJETIVOS

En conformidad con lo expuesto en la introducción, en el presente trabajo se lleva a cabo una profundización científica enfocada mediante revisión bibliográfica, sobre los metabolitos con relevante actividad biomédica de actinomicetos del género *Streptomyces* de origen marino, contrastada con los datos obtenidos del estudio metabolómico de la especie *Streptomyces sanyensis*, aislada de la bahía de Cádiz, mediante la aproximación OSMAC de la cepa, para así visualizar posibles moléculas con potencial aplicación farmacológica.

Así, se plantea como objetivo principal en el presente Trabajo de Fin de Máster **la búsqueda de nuevos productos naturales con actividad farmacológica a partir del estudio metabolómico del actinomiceto *S. sanyensis*, aislado de sedimentos de la zona del intermareal de la Bahía de Cádiz.**

Para llevar a cabo tal fin, se proponen los siguientes objetivos específicos:

I. Revisión Bibliográfica

En primer lugar, se llevará a cabo una revisión bibliográfica sobre los metabolitos aislados a partir de actinomicetos del género *Streptomyces* de origen marino y su posible potencialidad biomédica, lo que nos dará una idea de la diversidad de las estructuras y actividades biológicas que exhiben.

II. Estudio metabolómico del actinomiceto *Streptomyces sanyensis*

Posteriormente, abordaremos la fermentación del actinomiceto *S. sanyensis* bajo diferentes condiciones de cultivo que nos permitan inducir la expresión de grupos de genes biogénéticos silenciados, con el fin de obtener nuevos compuestos bioactivos que puedan ser utilizados como compuestos cabezas de serie en el diseño y síntesis de nuevos fármacos.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. Revisión bibliográfica

El método para llevar a cabo la recopilación de la bibliografía se basa en el análisis de diferentes criterios métricos de los productos de investigación científica que de manera cuantitativa permiten recuperar, sistematizar, analizar, visualizar, evaluar, obtener tendencias y patrones de grandes cantidades de información.⁵⁰

4.1.1. Estrategia de búsqueda

Se diseñó una estrategia de búsqueda enfocada en la actividad biológica de los metabolitos obtenidos de cepas marinas de *Streptomyces* spp. con potencial campo de acción a nivel biomédico. Para ello se realizó la selección de los artículos de la base de datos *SciFinder* de American Chemical Society, apoyada en *ISI (Web of Science)*, *Scopus* y *Science Direct* de Elsevier, con un rango de años de publicación dentro de la última década. Se estableció este rango teniendo en cuenta la temporalidad de las revisiones bibliográficas realizadas en la temática, donde se abarca un periodo de 10 años (2010-2020), lo que lleva a delimitar los estudios publicados en el año 2020, debido a que la búsqueda se realizó antes de que finalizase.

4.1.2. Criterios de selección de artículos.

Actualmente la investigación de metabolitos obtenidos a partir de microorganismos marinos, con especial énfasis en aquellas moléculas con actividad farmacéutica, representa un gran número de publicaciones, situación que genera la necesidad de filtrar artículos que no se enfoquen directamente al estudio metabolómico del género *Streptomyces* de origen marino. Para ello se establecieron los criterios de inclusión y exclusión, especificados en la Tabla 1.

Tabla 1. Criterios de selección de artículos

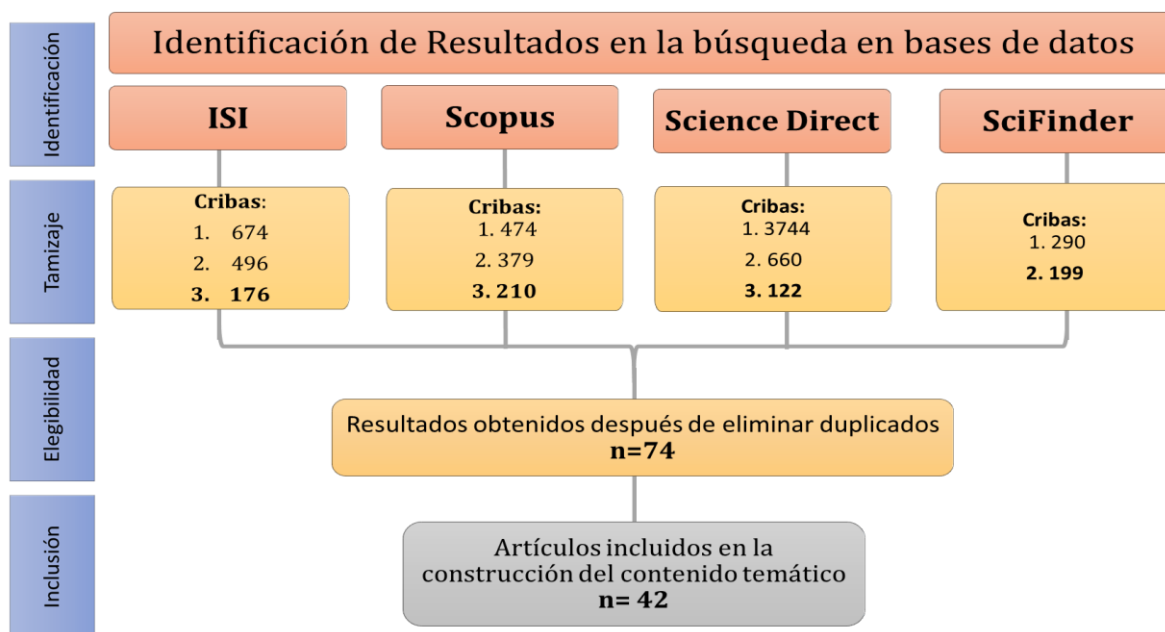
Criterio	Inclusión	Exclusión
Poblacional	Artículos sobre bacterias del género <i>Streptomyces</i> , de origen marino.	Investigaciones de microorganismos no bacterianos (en especial de hongos y microalgas), bacterias de familias diferentes a la <i>Actinobacteria</i> y de <i>Streptomyces</i> spp. que habitasen en zonas litorales (especialmente manglares).

Temático	Proyectos e investigaciones que reflejen un exhaustivo <i>screening</i> metabolómico a partir de los extractos obtenidos de <i>Streptomyces</i> spp. con fines terapéuticos.	Artículos que presentasen moléculas con una actividad biológica fuera del espectro farmacéutico.
Experimental	Artículos que lleven a cabo la elucidación y caracterización de metabolitos a partir de <i>Streptomyces</i> spp.	Revisiones bibliográficas donde no aparezca la caracterización de las moléculas obtenidas. Ensayos <i>in silico</i> donde no se realice correlación con datos experimentales de caracterización de la molécula obtenida.

4.1.3. Cribado de resultados

En un principio, se colocan en los motores de búsqueda palabras claves fundamentales en la temática: “metabolitos” “*Streptomyces*” “marino”, que delimita la búsqueda de literatura en las bases de datos con la respectiva equivalencia de idiomas. Posteriormente se realizarán los cribados por grupo terapéutico de la molécula según lo establecido en el sistema de clasificación por grupos terapéuticos de medicamentos, el código ATC (acrónimo de *Anatomical, Therapeutic, Chemical classification system*),⁵¹ con especial relevancia para metabolitos con actividad antiinfecciosa, antiparasitaria, antineoplásicos e inmunomoduladores y a nivel cardiovascular, atendiendo a algunos de los principales tópicos a nivel de salud pública, como son las enfermedades infecciosas y crónicas no transmisibles.

Se llevaron a cabo tres cribas en las bases de datos (Esquema 1). Los artículos de interés fueron filtrados teniendo en cuenta los criterios de inclusión establecidos, luego seleccionados por título, contenido del resumen (*abstract*) y cuerpo del artículo. Para la organización de los artículos seleccionados, se agruparon de acuerdo con la actividad terapéutica y las estructuras de los metabolitos obtenidos. Finalmente, se realizó una puesta en común sobre los resultados encontrados, tabulando en una base de datos los artículos con datos bibliográficos como autor, año, nombre de la revista, DOI; y temáticos, como la molécula obtenida, el código ATC y la actividad biológica (apéndices).



Esquema 1. Cribado de resultados de la revisión bibliográfica

4.2. Estudio metabólico del actinomiceto *Streptomyces sanyensis*

4.2.1. Cepa de estudio

El microorganismo utilizado en este estudio fue aislado por el grupo de “Microbiología Aplicada” de la Universidad de Cádiz a partir de sedimentos marinos extraídos a lo largo de un gradiente del intermareal en el Parque Natural Bahía de Cádiz (San Fernando).

La bacteria fue identificada por la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) como *Streptomyces sanyensis*, mediante amplificación directa por PCR del gen 16S rRNA, secuenciación parcial del mismo (con lecturas en las dos direcciones) y análisis de las secuencias,⁵² utilizando EzBioCloud⁵³ y BLAST.⁵⁴

La cepa identificada se conservó en micelio sobre fragmentos de Agar ISP2 en glicerol al 80% a -40 °C. Este cultivo está depositado en la Colección de cultivos bacteriológicos del Departamento de Química Orgánica de la Universidad de Cádiz.

4.2.2. Medios de cultivo

S. sanyensis fue sembrada en medio 6 Bac, MD y en diferentes medios de cultivo nombrados como ISP, estandarizados por el Proyecto Internacional de *Streptomyces* (*International Streptomyces Project* por sus siglas en inglés).⁵⁵ Todos los componentes utilizados están especificados en la tabla 2.

Tabla 2. Medios de Cultivo

Medio	pH	Componentes	Preparación(1L)
ISP1	7,0-7,2	5g triptona, 3g extracto de levadura, 20g agar	Se adicionan los componentes en un matraz para luego añadir hasta 1 L de agua de mar
ISP2	7,3	4g extracto de levadura, 10g extracto de malta, 4g dextrosa, 20g agar	
ISP3	7,2	20g avena, 1mL disolución de sales, 18g agar	Se hierve la avena en agua durante 20 minutos. Transcurrido el tiempo se filtra y se adiciona al sobrenadante agua de mar hasta 1L. Posteriormente se añade la disolución de sales y por último el agar
ISP4	7,0-7,4	1g K ₂ HPO ₄ , 1g MgSO ₄ ·7H ₂ O, 1g NaCl, 2g (NH ₄) ₂ SO ₄ , 2g CaCO ₃ , 1mL disolución de sales, 20g agar, 10g de almidón soluble.	Inicialmente se adicionan las sales sólidas y la disolución de sales a 500 mL de agua de mar. Luego se disuelve el almidón en 500 mL de agua de mar. Finalmente se une el preparado en un matraz para agregar el agar.
ISP5	7,0-7,4	1g L-asparagina, 10g glicerol, 1g K ₂ HPO ₄ , 1mL disolución de sales, 20 g agar	Se adicionan la disolución de sales, el K ₂ HPO ₄ , el glicerol y el agar a 1 L de agua de mar. Seguidamente se esteriliza y una vez que el medio se ha enfriado, pero antes de que solidifique, se le añade la asparagina.
Medio 6 Bac	7.3	4g extracto de levadura, 10g extracto de malta, 4g de dextrosa, 20g agar	Se disuelven los componentes en 1 L de agua de mar y se adiciona el agar.
MD	7,3	15g harina de soja, 2g extracto de levadura, 2g almidón soluble, 2g peptona, 4g NaCl, 4g CaCO ₃ ,	Se disuelve el almidón en 500 mL de agua destilada. El resto de los componentes se disuelven en 500 mL de agua de mar. Finalmente se unen ambas disoluciones en un matraz.
Disolución de sales		0,1g FeSO ₄ ·7H ₂ O; 0,1g MnCl ₂ ·4H ₂ O, 0,1g ZnSO ₄ ·7H ₂ O en 100 mL de agua de mar	

El agua de mar empleada fue proporcionada filtrada por el Servicio Central de Investigación en Cultivos Marinos (SC-ICM) del CASEM de la Universidad de Cádiz.

El pH del medio de cultivo se ajustó mediante pHmetro modelo micropH 2001 de Crison de alta resolución, controlado por un microprocesador que permite evaluar diversos parámetros como temperatura. Para ello se empleó una disolución de NaOH o HCl.

El medio de cultivo se esterilizó en una autoclave marca Selecta modelo Autester 4043720 bajo condiciones estándar de 121 °C y 1 atm de presión durante 20 min.

4.2.3. Aproximación OSMAC de *S. sanyensis*

S. sanyensis se precultivó en medio sólido 6-BAC, a partir de los discos de agar-micelio conservados a -40 °C. Las placas se incubaron a 25 °C y en presencia de luz artificial (luz día) durante 14 días. Seguidamente, se cortaron discos de agar-micelio, que se utilizaron como inóculo de los seis medios sólidos y el medio líquido MD empleados en la aproximación OSMAC (Tabla 2).

Para cada medio sólido, se sembraron 6 placas Petri de 150 mm, conteniendo 100 mL de medio por placa. Las placas se inocularon refregando discos de agar-micelio procedentes del preinóculo y se incubaron bajo las mismas condiciones descritas anteriormente, durante 14, 28 y 46 días.

Una vez finalizado el periodo de incubación, se llevó a cabo una extracción sólido-líquido del medio de fermentación. Se extrajeron dos placas por medio de cultivo y tiempo de fermentación. Para ello se fraccionó el medio de cultivo en cubos de pequeño tamaño, que se traspasaron a matraces Erlenmeyer de 1 L y se cubrieron con acetato de etilo (AcOEt). El medio fue sonicado en un baño de ultrasonidos modelo ARGOLAB AU-65 durante 20-30 minutos, con la finalidad de potenciar la migración de los compuestos hacia la fase orgánica. Transcurrido el tiempo indicado se filtró el disolvente y se repitió el procedimiento de extracción del medio de cultivo usando la misma metodología, con el fin de asegurar su eficacia. La fase orgánica se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida por evaporación, empleando un rotavapor BÜCHI RE-111 Water Bath 461.

En el caso del medio líquido, se inocularon 2 Erlenmeyers de 500 mL, conteniendo 200 mL de medio MD (tabla 2), con 6 taquitos por matraz de agar-micelio procedentes del preinóculo. Los matraces se incubaron a 180 rpm durante 7 días, bajo las mismas condiciones descritas anteriormente. Transcurrido el periodo de fermentación, se separó el micelio del caldo de cultivo por centrifugación

a 4.000 rpm y se realizó una extracción líquido-líquido del caldo de cultivo con AcOEt (3 veces). La fase orgánica se lavó 2 veces con agua, se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtró y se concentró a presión reducida en un rotavapor.

Todos los extractos crudos obtenidos se pesaron y conservaron a -20 °C hasta su posterior utilización.

4.2.4. Fermentación a gran escala de *S. sanyensis*.

Se prepararon 150 placas Petri, con 100 mL cada una de medio ISP2. Cada placa se inoculó con una suspensión de esporas de *S. sanyensis* en agua destilada, recolectadas de un cultivo de 15 días. La siembra se realizó por extensión de la suspensión de esporas a través de la superficie de la placa con un asa con punta plana (Asa de Digrafsky). Las placas se incubaron a 25 °C durante 15 días en presencia de luz artificial (luz día).

Transcurrido el tiempo de fermentación, se llevó a cabo una extracción sólido-líquido del caldo de cultivo, siguiendo el procedimiento descrito en el apartado anterior, que nos condujo a 576 mg de un extracto seco.

4.2.5. Análisis, purificación y elucidación de metabolitos secundarios

Los extractos crudos obtenidos de las diferentes fermentaciones se analizaron mediante cromatografía en capa fina (CCF). El extracto procedente de la fermentación a gran escala se separó y purificó mediante cromatografía en columna (CC) y cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Para la caracterización de los compuestos aislados se utilizó la Resonancia Magnética Nuclear (RMN).

4.2.5.1. Técnicas cromatográficas

Cromatografía en capa fina (CCF)

Para las CCF se utilizó como fase estacionaria cromatofolios de gel de sílice de Merck con indicador fluorescente F₂₅₄. Para la fase móvil de las capas finas se emplearon mezclas de Hex/AcOEt a distintas polaridades. Las muestras fueron cargadas a 0,5-1 cm de la base y se eluyeron con la mezcla de eluyente por capilaridad.

La visualización de los metabolitos se realizó mediante dos métodos de revelado:

- Físico (luz UV). Gracias al indicador presente en la fase estacionaria, al proporcionarse luz UV por una lámpara VL-6LC de Sigma-Aldrich a $\lambda = 254$ y 365 nm, se pudieron identificar los compuestos que poseían un cromóforo UV.
- Químico (vainillina). La placa se sumergió en el revelador vainillina, cuya composición se muestra en la Tabla 3. Seguidamente se le aplicó calor con un decapador, hasta la aparición de los compuestos mediante bandas con distintas intensidades de color y tono.

Tabla 3. Composición del revelador vainillina

Componente	Masa (g)	Volumen (mL)
Vainillina	9 g	-
Ácido Sulfúrico	-	5
Etanol (96%)	-	150
Agua Destilada	-	40

Todos los extractos obtenidos en la aproximación OSMAC fueron cromatografiados en capa fina para un análisis de los resultados. Como fase móvil se usaron mezclas de Hex/AcOEt al 25%, 50% y 80%. Como control se utilizaron los extractos procedentes de la extracción de las harinas de soja y avena con AcOEt, con la finalidad de diferenciar los compuestos producidos por la bacteria de los componentes de las harinas.

De igual forma, el extracto crudo procedente de la fermentación a gran escala se analizó mediante CCF, usando como eluyente mezclas de Hex/AcOEt al 50% y 80%.

Cromatografía en Columna (CC)

Para la cromatografía en columna se utilizó como soporte una columna de vidrio con relleno de gel de sílice de grano $60-200\mu\text{m}$. Las muestras se depositaron disueltas en un pequeño volumen del eluyente o como cabeza seca de gel de sílice. Para la preparación de la cabeza, se disolvió la muestra en acetona analítica y se impregnó en gel de sílice, se evaporó el disolvente y se depositó en la parte superior de la columna.

El crudo obtenido en la fermentación a gran escala se cromatografió en una columna de gel de sílice de dimensiones $32\text{ cm} \times 2,5\text{ cm}$, depositándose como cabeza sólida de 1 cm de altura (Figura 2). Como

eluyente se emplearon mezclas de Hex/AcOEt en gradientes de polaridad creciente (10-100%) y metanol (MeOH) para arrastrar los posibles productos que hubiesen quedado retenidos en el gel de sílice, recolectándose 12 fracciones.

Para eliminar la línea base de los extractos obtenidos en la CC, se cromatografiaron en una pequeña columna de gel de sílice de 0,6 X 7 cm. El eluido de la columna se filtró a través filtros de teflón de 0,22 μm de tamaño de poro marca COSELA, S.L, acoplados a jeringas de vidrio de 3 mL.

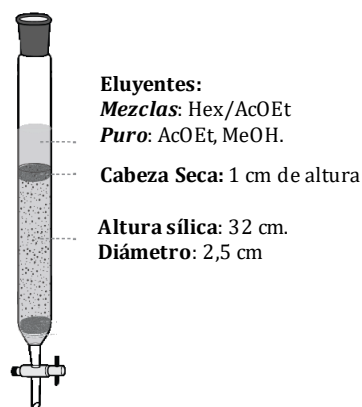


Figura 2. Cromatografía en columna del extracto crudo de *S. sanyensis* en la fermentación a gran escala.

Cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC)

Para la purificación de los compuestos por HPLC se empleó un cromatógrafo modelo MERCK HITACHI LaChrom equipado con detector de índice de refracción. Como fase estacionaria se utilizó una columna semipreparativa modelo MERCK LiChrosper® Si-60 (10 μm) LiChroCART 250-10, con capacidad máxima de 10 mg de mezcla disuelta en 100 μL por inyección. Para la fase móvil se emplearon mezclas isocráticas de Hex/AcOEt, previamente desgasificadas mediante ultrasonido durante 20-30 min.

4.2.5.2. Resonancia Magnética Nuclear (RMN)

Se realizaron experimentos de RMN- ^1H de las 12 fracciones obtenidas por CC de la fermentación a gran escala, así como de cada uno de los compuestos aislados por HPLC que mostraron un peso superior a 1 mg.

Para ello se emplearon los espectrómetros Agilent 400 MHz de los Servicios Centrales de Ciencia y Tecnología de la Universidad de Cádiz. Las muestras se disolvieron en CDCl_3 o CD_3OD .

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Revisión bibliográfica

Dentro de la bibliografía estudiada, se seleccionaron 42 artículos para el cuerpo de la revisión, en los que se apreció la gran diversidad de metabolitos derivados de *Streptomyces* spp., aislados de ambientes marinos de diferentes partes del mundo, especialmente países asiáticos como China, Corea e India, y a nivel europeo, Alemania y España (Figura 3).

Teniendo en cuenta el sistema internacional de medicamentos, *Anatomical Therapeutic Chemical Classification* (Clasificación ATC) de la Organización Mundial de la Salud, se codificaron los metabolitos obtenidos durante la revisión como posibles principios activos.⁵⁶ Los grupos más representativos fueron antiinfecciosos para uso sistémico (J) y agentes antineoplásicos e inmunomoduladores (L), seguido de moléculas con actividad representativa de estos dos (J-L). Otros grupos de actividad biológica demostrada fueron tracto alimentario y metabolismo (A), sistema musculoesquelético (M), sistema nervioso (N) y el grupo de productos antiparasitarios, insecticidas y repelentes (P) (Figura 4).

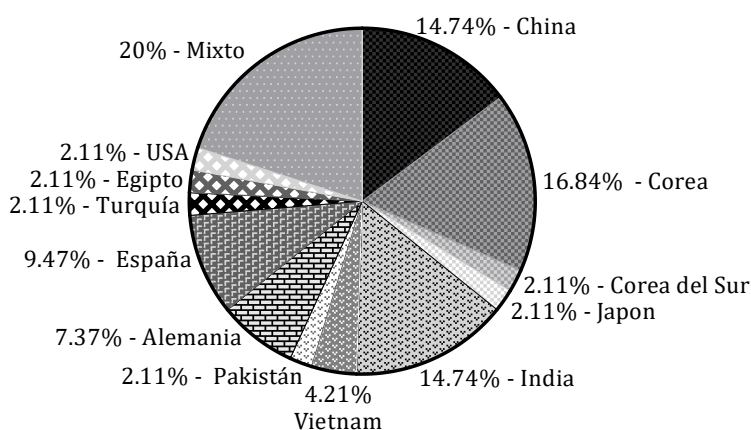


Figura 3. Porcentaje de Frecuencia de los países en la revisión.

En Mixto: Brasil, Canadá, Australia, Nueva Guinea, USA, China, Corea, Japón, India, Alemania y Egipto.

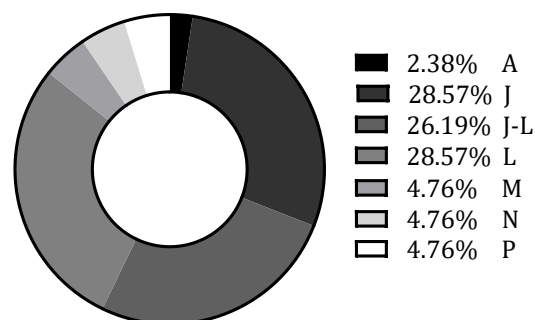


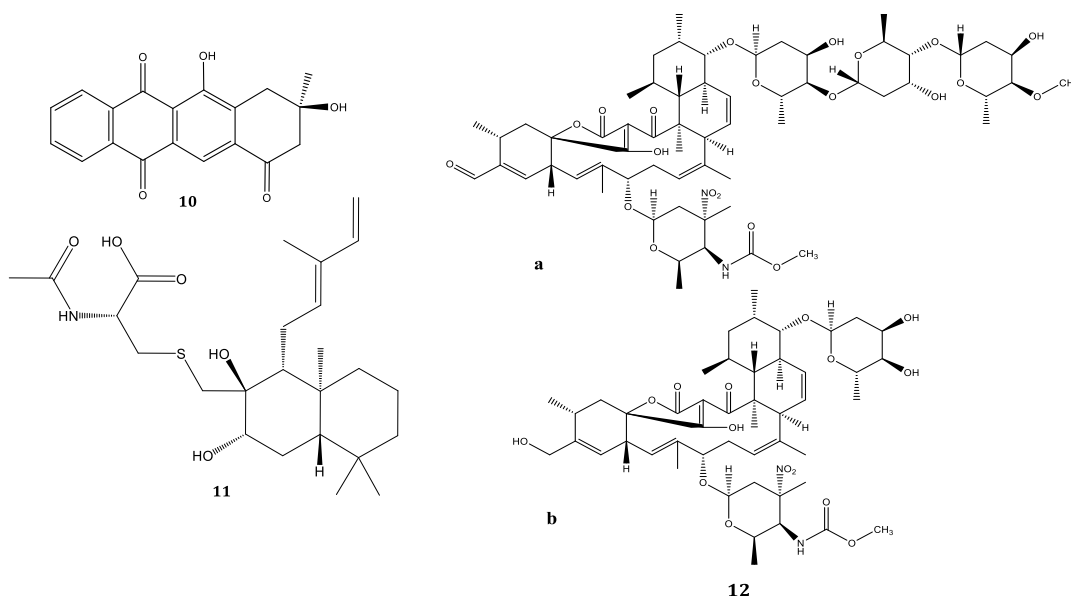
Figura 4. Porcentaje de Frecuencia de los grupos ATC en la revisión.

Las distintas cepas de *Streptomyces* spp. fueron aisladas principalmente de Bahías y mar abierto, a partir de muestras de sedimento. Los medios de crecimiento más utilizados fueron los medios ISP⁴⁰ en especial aquellos que contenían extractos de malta⁵⁷⁻⁶⁰ y aminoácidos como arginina.⁶¹ Los metabolitos obtenidos más frecuentemente fueron policétidos y alcaloides, con diferentes tipos de actividades biológicas y potencial farmacéutico.

5.1.1. Antiinfecciosos y antiparasitarios.

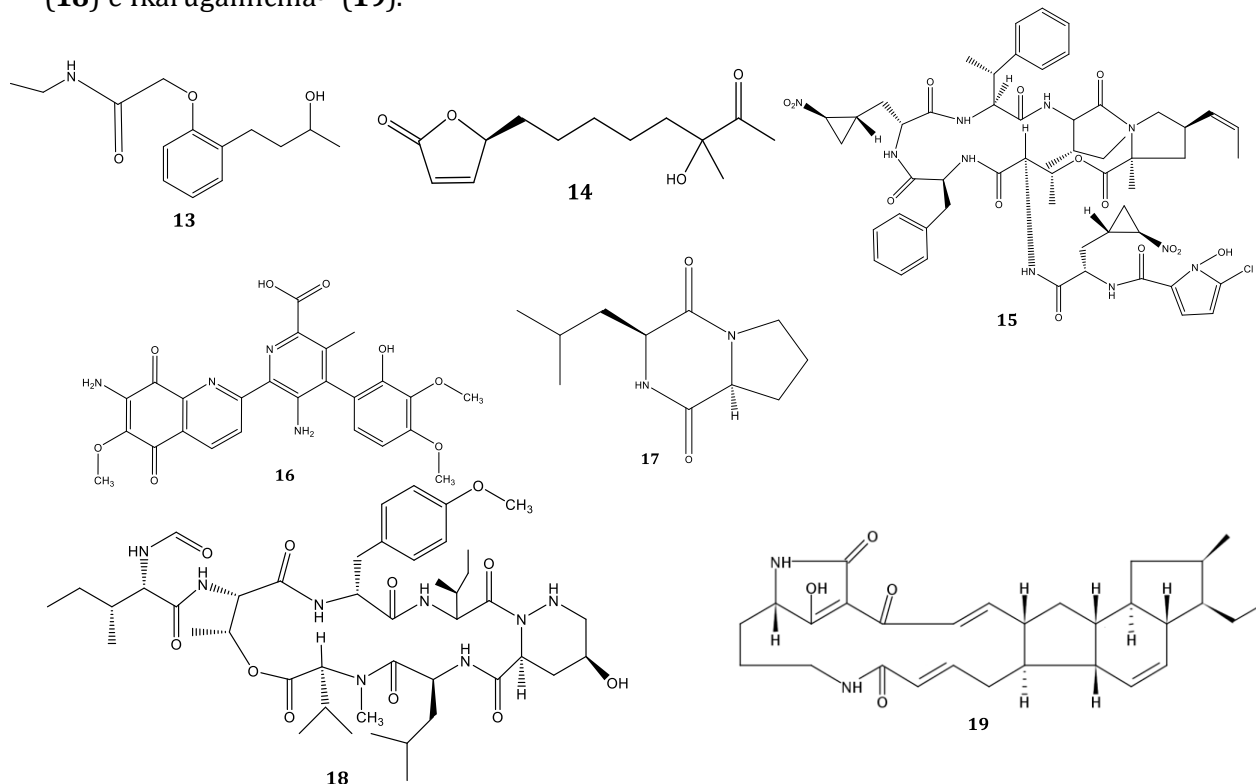
Dentro de los patógenos de alta incidencia a nivel clínico por su prevalencia en la población y/o ambiente, se encuentran aquellos microorganismos con alta resistencia a los antibióticos, tales como las bacterias *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina (MERS), *Enterococcus* spp. y bacterias Gram negativas productoras de β -lactamasas de amplio espectro (BLES) como *Escherichia coli*.^{62,63} Otros microorganismos de relevancia a nivel de salud pública son las levaduras pertenecientes a la especie *Candida*^{64,65} y hongos como *Aspergillus* spp.,⁶⁶ que representan amenazas a la salud por su alta patogenicidad y emergente resistencia a los antifúngicos. Otros microorganismos de relevancia, además de en el entorno clínico,⁶⁷ por causar infecciones de origen alimentario^{68,69} son *P. aeruginosa*⁷⁰, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus vulgaris*/*P. hauseri*,⁷¹⁻⁷³ *Kocuria rhizophila*,⁷⁴ *Micrococcus luteus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* entérica, *Bacillus cereus*, *Bacillus Calmette Guérin*.

Para contrarrestar a estos patógenos asociados a la atención sanitaria, se han aislado diferentes compuestos con actividad antibacteriana a partir de las cepas PGC, PM49 y 12A35 de *Streptomyces* spp., tales como los policétidos Arabomicina⁷⁵ (**10**), Cyslabdan⁷⁶ (**11**), lobosporina⁷⁷ H (**12a**) e I (**12b**).

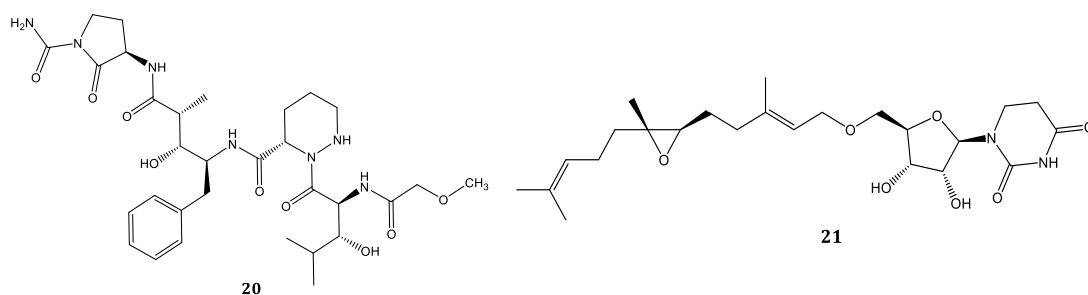


Entre los grupos con actividad antibacteriana y antifúngica, son de especial relevancia las moléculas sintetizadas por *Streptomyces coeruleorubidus* BTSS-301, *S. drozdowiczii* SCSIO 10141, *S. zhaozhouensis*, y *Streptomyces* spp. cepas G212, SNM55, 4054, SMS636, VITLGK012. Entre ellas destacan ceramidas, como Acetamida⁷⁸ (**13**); derivados del ácido shikímico, como Micelonida A⁷⁹

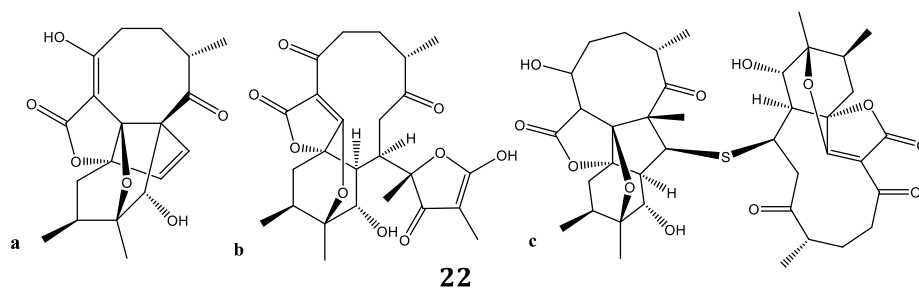
(14); benzoatos;⁸⁰ Hormaocina⁸¹ (15); Estreptonigrina⁵⁷ (16); Gancidina W⁸² (17); Marfomicina⁸³ (18) e Ikarugamicina⁶¹ (19).



Otros microorganismos de alto impacto a nivel sanitario son los parásitos, como el agente etiológico causante de la malaria, *Plasmodium*. Dentro de este género la especie *P. falciparum* es una de cepas más virulentas, incidentes y de mayor resistencia a los antimaláricos.^{84,85} Para contrarrestar esta problemática se han aislado de *S. ballenaensis*, *S. bangulaensis* y *Streptomyces* sp. cepa CNT-372, moléculas con actividad biológica contra este agente, como el alcaloide Actinoramida⁸⁶ (20) y terpenos como Farsenide⁸⁷ (21).



Por último, cabe mencionar que entre los metabolitos procedentes de especies de *Streptomyces*, como *S. koyangensis*, se encuentran potenciales antivirales. Tal es el caso de las Neoabisomicinas^{88D} (22a), E(22b) y G (22c), que ejercen actividad contra *S. aureus* resistente a metilina y el virus zoonótico de estomatitis vesicular (VEV).⁸⁹

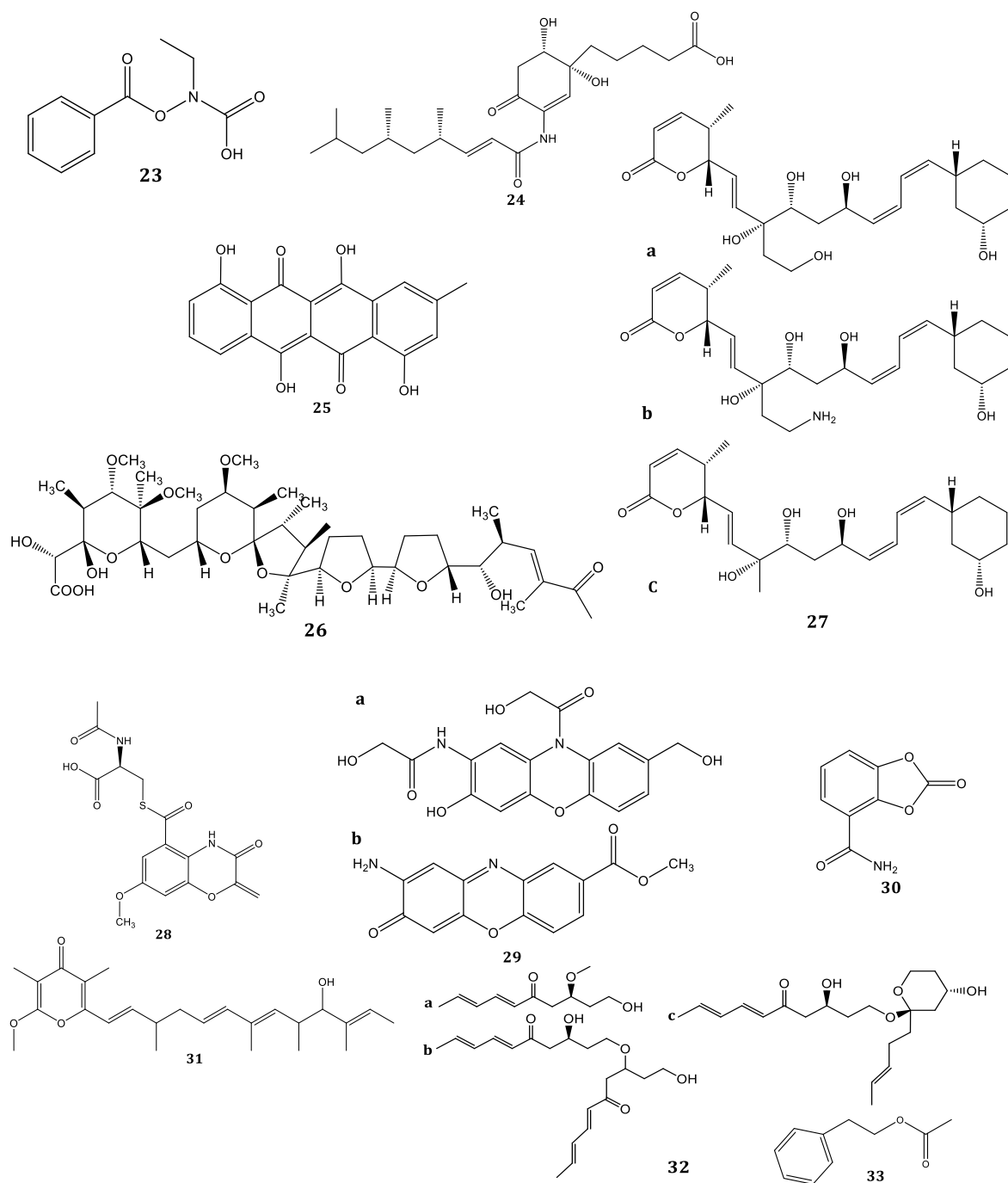


5.1.2. Antineoplásicos e inmunomoduladores

Una de las causas más importantes de mortalidad en la población son las patologías oncológicas, que durante el año 2018 se cobraron alrededor de 9,6 millones de vidas a nivel mundial,^{90,91} y que se prevé que alcance los 1,3 millones de personas a finales del 2020 en la Unión Europea. Los tipos de cáncer con mayor incidencia son los de mama, próstata, colorrectal, estómago, hígado, pulmón, cérvix, piel y tiroides. Por otra parte, la mortalidad por cáncer de pulmón y esófago fue la principal a nivel mundial para el año 2020,^{92,93} seguido del colorrectal, pancreático y de mama para la población europea.⁹⁴

Los productos naturales obtenidos a partir de *Streptomyces* spp., se evaluaron frente a distintas líneas celulares según los carcinomas más incidentes. Así, entre las líneas celulares más ensayadas están las de cáncer de mama (MCF7, MDA-MB-231), colon (HCT116, HT 29, CaCo-2), pulmón (A549), páncreas (PSN1), hígado (HEPG2, SK-HEP-1), estómago (SNU638, AGS), glioblastoma (LN18), próstata (PC-3), ovario (PA1), cérvix (HeLa) y leucemia (K562, HL-60). Los mecanismos de acción de los metabolitos aislados con actividad antineoplásica son muy diversos, pudiendo ejercer su actividad inhibitoria frente a diversas proteínas, como la proteína kinasa C (PKC),^{95,96} catepsina B^{97,98} y topoisomerasa,⁹⁹ o ejercer efecto regulador sobre la molécula TRAIL (ligando inductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral).¹⁰⁰

Gracias a los factores ambientales inherentes al entorno marino, la variedad estructural de los metabolitos aislados de especies de *Streptomyces*, como *S. globosus* VITL GK011, *S. cacaoi*, *S. albus*, *S. misionensis*, *S. griseus* y *Streptomyces* spp. cepas HK10, EGY1, ACT232, G261, A65, Eg25, es muy amplia. Predominan los policétidos, tales como el ácido benzoiloxi-etil-carbámico¹⁰¹ (**23**), Salternamida E⁵⁹ (**24**), Sharquinona¹⁰² (**25**), Ácido arenárico¹⁰³ (**26**) y las Lactomicinas⁶⁰ A (**27a**) B(**27b**) y C(**27c**); metabolitos derivados de la ruta del shikimato como benzoxacystol¹⁰⁴ (**28**), Maroxazinona-venezuelina D¹⁰⁵ (**29a-b**), derivado de Benzodioxizol¹⁰⁶ (**30**) derivados de Estaurosporina,¹⁰⁷ Actinopirranonas¹⁹ (**31**); terpenos como Estreptenol¹⁰⁸ F (**32a**), G (**32b**), I (**32c**) y fenilacetato¹⁰⁹ (**33**).

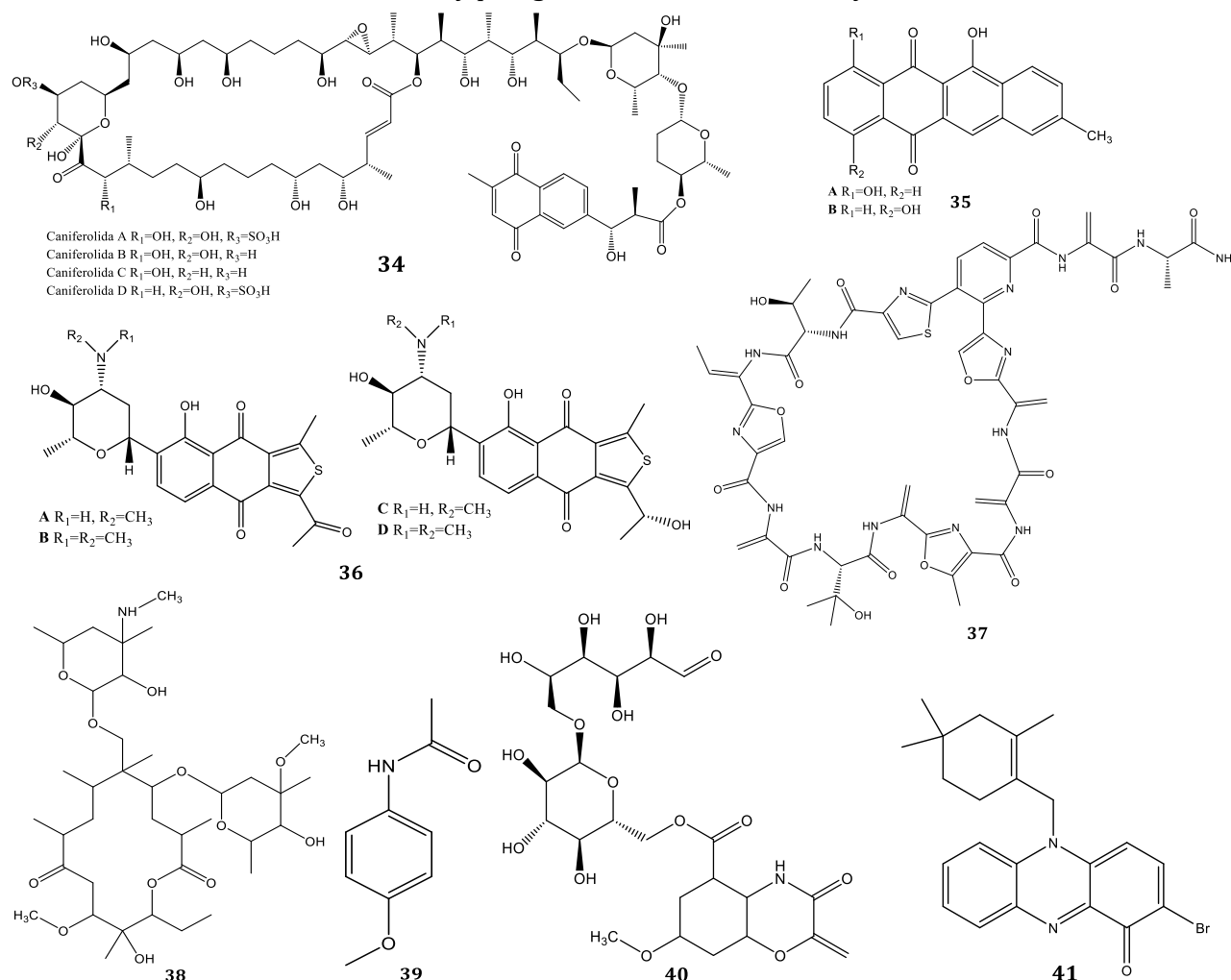


5.1.3. Antiinfecciosos y antineoplásicos

Dentro de la amplia gama de bioactividades de las moléculas aisladas de microorganismos marinos, existen algunas activas frente a diferentes dianas biológicas,¹¹⁰ entre las que destacan moléculas tanto potencialmente antibióticas como anticancerígenas.¹¹¹

A continuación se muestran algunas moléculas que inhiben el crecimiento microbiano de patógenos clínicos tratados en el apartado anterior, así como la proliferación de las líneas celulares representativas de los cánceres de mayor incidencia en la población.¹¹²

Las especies implicadas en la síntesis de estas moléculas son *S. caniferus* CA-271066 y *Streptomyces* spp. Mei, SS17F, ICN19, AP123, SCA29, ART5, SCSIO 40060, CNY-960, CNS-284. En coherencia a lo presentado en el grupo de antiinfecciosos, las moléculas con actividad mixta pertenecen en su mayoría a la mismas familias estructurales: policétidos y derivados del shikimato. Entre los policétidos destacan la Caniferolida¹¹³ A-C (**34**), Boshramicinones¹¹⁴ A-B (**35a**) y C (**35b**), Thioquinomicinas¹¹⁵ A-B (**36a**) y C-D (**36b**), Ala-genintiocina (**37**),¹¹⁶ AP 123¹¹⁷ (**38**) y 4-methoxiacetanilida¹¹⁸ (**39**). Dentro de los derivados del shikimato segundo se encuentran derivados del 1,3-benzodioxol,¹¹⁹ derivados de Ikaguramicina¹²⁰ y Arcticosida - C-1027 (**40**).¹²¹ Estructuralmente diferente sería la Marinocianina A¹²² (**41**), un terpeno con actividad citotóxica frente a células de cáncer colorrectal y patógenos clínicos como SAMR y *C. albicans*.

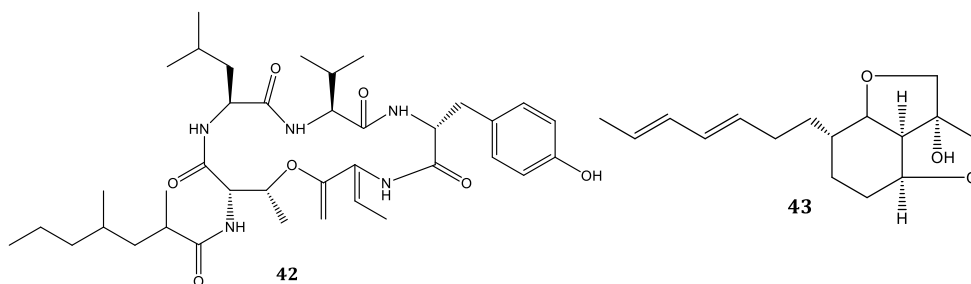


5.1.4. Enfermedades neurológicas

Entre las patologías asociadas a la alteración de las condiciones fisiológicas con mayor morbi-mortalidad tienen especial importancia los trastornos neurológicos, tales como las alteraciones neuropsiquiátricas y las lesiones del sistema nervioso, principales causas de la pérdida de años de vida saludable, medidos por los años de vida con discapacidad (years lived with a disability YLDs).¹²³ En Europa destacan los tumores cerebrales, accidentes cerebrovasculares, migraña y cefalea tensional, epilepsia, esclerosis múltiple, demencia (Alzheimer) y enfermedad de Parkinson.¹²⁴ De este grupo, las dos últimas patologías representan las principales enfermedades neurodegenerativas,¹²⁵ que se caracterizan por no tener tratamiento directo, sino manejo de los síntomas derivados del daño neuronal.^{126,127}

Así, como ejemplo del potencial de los metabolitos procedentes de *Streptomyces* spp. de origen marino contra las enfermedades del sistema nervioso central¹²⁸ destaca el compuesto Tumescenamides¹²⁹ (**42**), un dipéptido aislado de *S. tumescens* YM23-260, con potencial actividad reguladora en las enzimas implicadas en la degradación de la proteína β -amiloide responsable del Alzheimer.

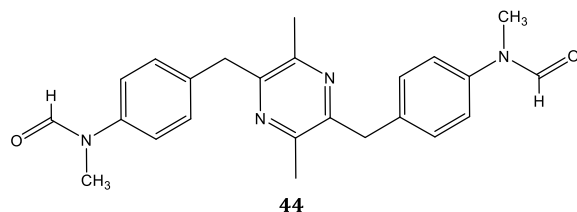
Por otro lado, se está innovando en estructuras con actividad promisorio contra enfermedades neurodegenerativas. Un ejemplo de ello es la molécula aislada de *S. miharaensis*, patentada por el Instituto Coreano de Ciencia y Tecnología Oceánicas de Corea del Sur¹³⁰ denominada 2H-Furo[4,3,2-cd]benzofuran-2a(3H)-ol, 4a-(3E,5E)-3,5-heptadien-1-ilhexahidro-, 2aS,4aS,7aS,7bR (**43**). Este compuesto muestra actividad inhibitoria del óxido nítrico en microglías, lo que representa una mejora en las condiciones neuroinflamatorias.



5.1.5. Sistema músculo-esquelético

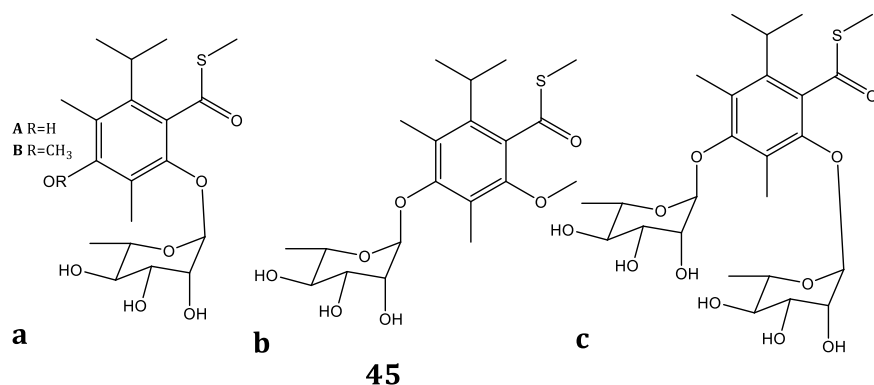
Como factor transversal a las etiologías de diferentes alteraciones clínicas,¹³¹ se encuentran los trastornos inflamatorios. Así, entre los principios activos musculoesqueléticos, como primer subgrupo farmacológico se encuentran los antiinflamatorios.¹³²

Existen varios mecanismos implicados en la acción inflamatoria. Los polioles Succinilenos A-D, aislados de *Streptomyces* sp SAK1, muestran actividad inhibitoria del óxido nítrico.^{133,134} Otra diana biológica son las células implicadas en los procesos inflamatorios, tales como los macrófagos.¹³⁵ En este contexto, el metabolito Griseusrazina A¹³⁶ (**44**) aislado de *S. griseus* subsp. *griseusm*, presenta un efecto regulador sobre estas células y otras citoquinas proinflamatorias.



5.1.6. Tracto alimentario y metabolismo

A partir del trastorno generalizado del metabolismo, se dilucidan enfermedades que son transversales a varios sistemas del organismo. Una de las más prevalentes a nivel mundial es la diabetes mellitus, presente en aproximadamente 442 millones de personas en el año 2020 de 1,6 millones de personas al año.¹³⁷ De manera similar a las enfermedades neurodegenerativas, para su tratamiento se administran fármacos que manejan toda la sintomatología relacionada, sin lograr reparar la causa de la misma, más cuando esta enfermedad presenta diferentes etiologías que permiten su clasificación en diabetes mellitus tipo I y II. Por tanto, es de especial importancia la búsqueda de vías preventivas a la alteración celular/tisular que causa la enfermedad. En este contexto, las Suncheonosides A-B(**45a**), C(**45b**) y D(**45c**), aisladas de *Streptomyces* sp SSC21 procedente de sedimentos de la Bahía de Suncheon en Corea, ejercen un efecto regulador de la adipogénesis, cuya actividad es promisorio para un viable antidiabético.



5.2. Estudio metabolómico del actinomiceto *Streptomyces sanyensis*

5.2.1. Aproximación OSMAC en *S. sanyensis*

La aproximación OSMAC es una de las vías más versátiles para la expresión de genes silentes, la cual a través de puntuales modificaciones en las condiciones de crecimiento de los microorganismos permite dar pie a la activación de diversas rutas para la formación de nuevos productos naturales.

Dentro de las modificaciones más representativas, se encuentran los cambios en las fuentes de carbono y nitrógeno,⁴³ sobre todo para el género *Streptomyces*,¹³⁸ donde se manifiesta relevante en la regulación de la transcripción.¹³⁹ Así, *S. sanyensis* se cultivó en siete medios de cultivo con diferentes fuentes de carbono y nitrógeno (ver apartado 4.2. Materiales y Métodos) y se incubó durante 14, 28 y 46 días de crecimiento, con el fin de ver si un cambio en las condiciones de cultivo del microorganismo conducía a un cambio en su perfil metabolómico. Los pesos correspondientes a cada uno de los extractos obtenidos se muestran en la Figura 5.

Un análisis comparativo de estos pesos mostró una productividad ligeramente mayor para los medios sólidos ISP3 y ISP6, y para el medio líquido MD. Los medios ISP3 y MD fueron preparados con harinas de avena y soja, respectivamente, componentes que han sido ampliamente reportados por su capacidad de promoción de la biosíntesis de diferentes compuestos.¹⁴⁰⁻¹⁴² Sin embargo, sus componentes también son extraídos con el disolvente utilizado (AcOEt), haciendo que incremente el peso del extracto y además dificultando la posterior separación de los metabolitos de interés.

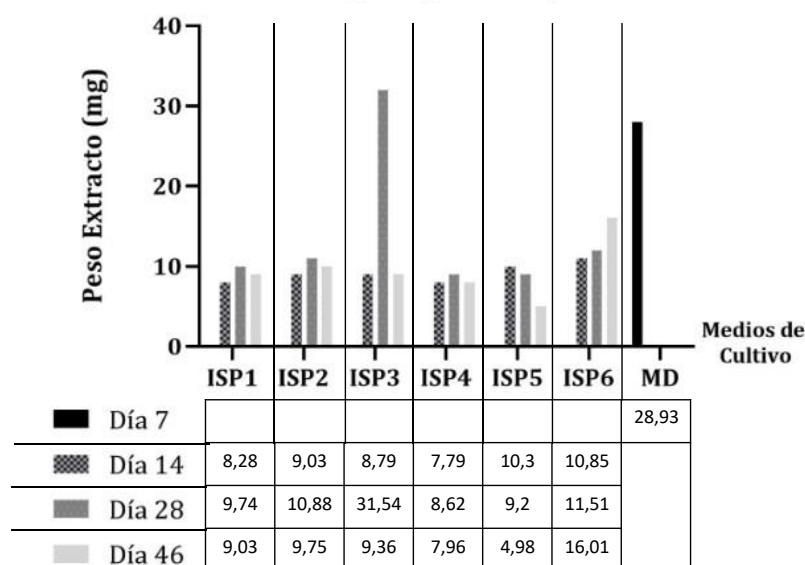


Figura 5. Pesos de los extractos obtenidos en la aproximación OSMAC de *Streptomyces sanyensis*.

Los extractos obtenidos de los diferentes medios de cultivo a los tres tiempos de fermentación (14, 28 y 46 días), fueron analizados por CCF usando mezclas eluyentes de diferentes polaridades: 25%, 50% y 80% Hex/AcOEt (Figuras 6-8). Con la finalidad de clarificar qué compuestos eran biosintetizados por *S. sanyensis* y cuáles procedían de las harinas de avena y soja, se incluyeron en las CCF los extractos de ambas harinas.¹⁴³⁻¹⁴⁶ De los resultados hallados, se encuentra cierta homogeneidad en las bandas presentes en las placas, destacando un mayor número de compuestos en el medio ISP2. El tiempo, en cambio, no pareció ser determinante, observándose el mismo número de metabolitos a lo largo del tiempo de crecimiento.

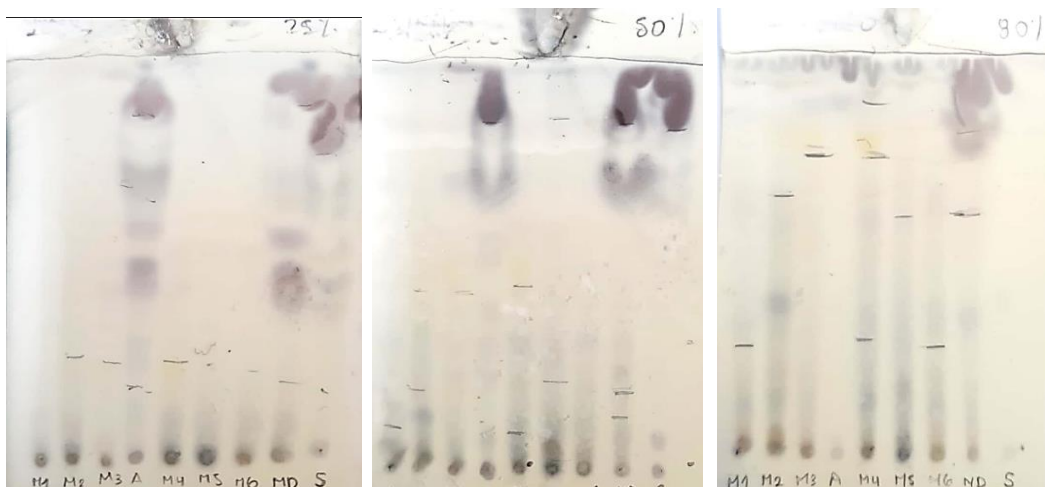


Figura 6. CCF de extracto a los 14 días de crecimiento.

CCF: M1 (ISP1), M2 (ISP2), M3 (ISP3), M4 (ISP4), M5 (ISP5), M6 (Medio6Bac), A (Avena), S (Soja).

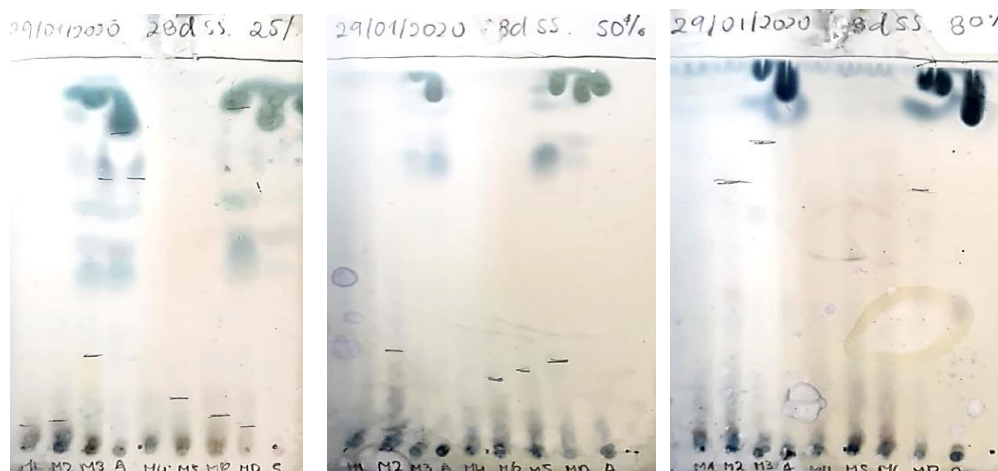


Figura 7. CCF de extracto a los 28 días de crecimiento.

CCF: M1 (ISP1), M2 (ISP2), M3 (ISP3), M4 (ISP4), M5 (ISP5), M6 (Medio6Bac), A (Avena), S (Soja).

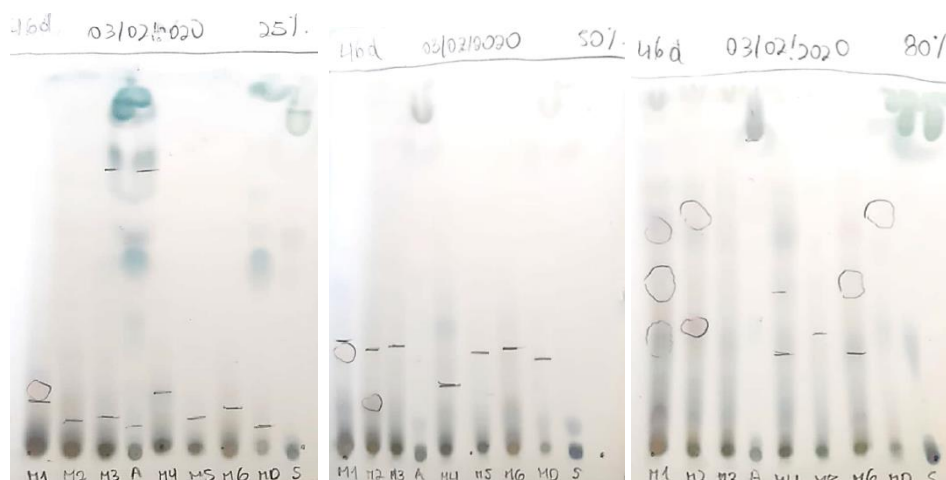


Figura 8. CCF de extracto a los 46 días de crecimiento
CCF: M1 (ISP1), M2 (ISP2), M3 (ISP3), M4 (ISP4), M5 (ISP5), M6 (Medio6Bac), A (Avena), S (Soja).

Acorde a la revisión bibliográfica realizada, para el cultivo de las actinobacterias marinas en laboratorio se utilizaron diferentes tipos de medios de cultivo, cuyos componentes presentan abundante cantidad de oligoelementos (sales); fuentes de carbono, como glucosa, almidón y malta; y fuentes de nitrógeno, como extracto de levadura, peptona y soja,¹⁴⁷ Los medios más frecuentemente utilizados se correspondieron con los estandarizados a nivel internacional, pertenecientes al *International Streptomyces Project* (ISP), siendo de todos ellos el más utilizado el medio ISP2 (Figura 9).

El medio ISP2 es rico en levadura, malta, y dextrosa. Gracias a su contenido en nitrógeno es uno de los principales medios de elección para la obtención de PNMs,¹⁴⁸ ya que este está implicado en el aumento de la productividad de los extractos y la obtención de gran variedad de moléculas con diferentes actividades biológicas, tales como actividades antibiótica,^{78,149} neuroprotectora,¹⁵⁰ nanopartículas³² e industriales como probiótico en acuicultura¹⁵¹ y productor de biosurfactantes (ramnolípidos).¹⁵²

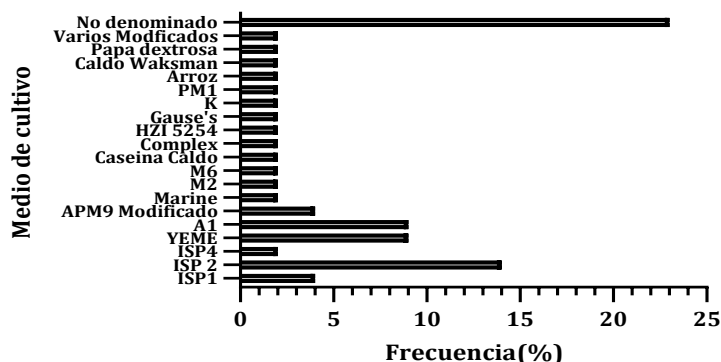


Figura 9. Medios de Cultivo de *Streptomyces* spp marino para la producción de metabolitos.
No Denomido: Medios de cultivo cuyo nombre o componentes no han sido brindados por los autores.

Por otro lado, un factor importante es el tiempo de fermentación, puesto que muchos de los microorganismos marinos no son cultivables dentro del laboratorio o en su defecto tienden a crecer lentamente^{153,154} en especial las actinobacterias, donde ha sido necesario un periodo de hasta 12 semanas para evidenciar el crecimiento.¹⁵⁵ Durante la revisión bibliográfica, se ha observado que, bajo condiciones de laboratorio, se han empleado desde 72 horas hasta 50 días para obtener metabolitos con diferentes actividades biomédicas (Figura 10). Esto contrasta con el comportamiento microbiano en su entorno autóctono, donde la mayor incidencia se da para los días 7 y 10.

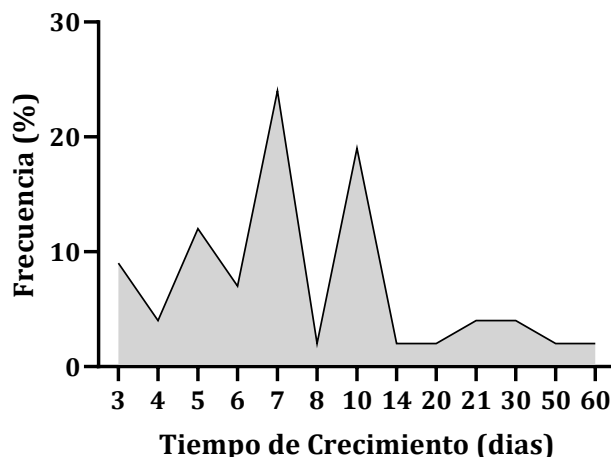


Figura 10. Frecuencia de tiempo de crecimiento de producción de metabolitos en *Streptomyces* spp.

En base a todo lo anteriormente expuesto se definió el medio de cultivo ISP2 como el idóneo para realizar la fermentación a gran escala y de esta manera incrementar la producción y variedad de metabolitos para su posterior purificación y caracterización. Por otro lado, y dado que el tiempo no parecía ser significativo acorde al análisis realizado por CCF (Figuras 6 a 8), se decidió trabajar a 14 días de crecimiento, ya que suponía un tiempo medio en comparación con el empleado para el cultivo de otras cepas productoras de metabolitos de su género. Asimismo, el número de días seleccionado ayudaba a acortar la duración del experimento.

5.2.2. Fermentación a gran escala de *S. sanyensis*.

Con objeto de profundizar en el conocimiento del metabolismo secundario de *S. sanyensis*, aislado de sedimentos procedentes del Parque Natural Bahía de Cádiz, se abordó el aislamiento e identificación de los metabolitos producidos y excretados por este actinomiceto al medio de cultivo. Para ello se inocularon 150 placas Petri, con medio ISP2 (100 mL/placa), con una suspensión de esporas de *S. sanyensis* en agua destilada y se incubaron durante 14 días.

El crecimiento microbiano a nivel macroscópico mostró a los tres días de incubación colonias amarillas de tonalidad similar al medio, planas y redondas, con progresivo cambio de color del medio hasta una tonalidad café y micelio blanco a los 5 días de crecimiento. Tras 10 días, la placa mostró una tonalidad oscura, la cual va tomando color grisáceo para el día 14 debido a la abundante presencia de micelio (Figura 11).

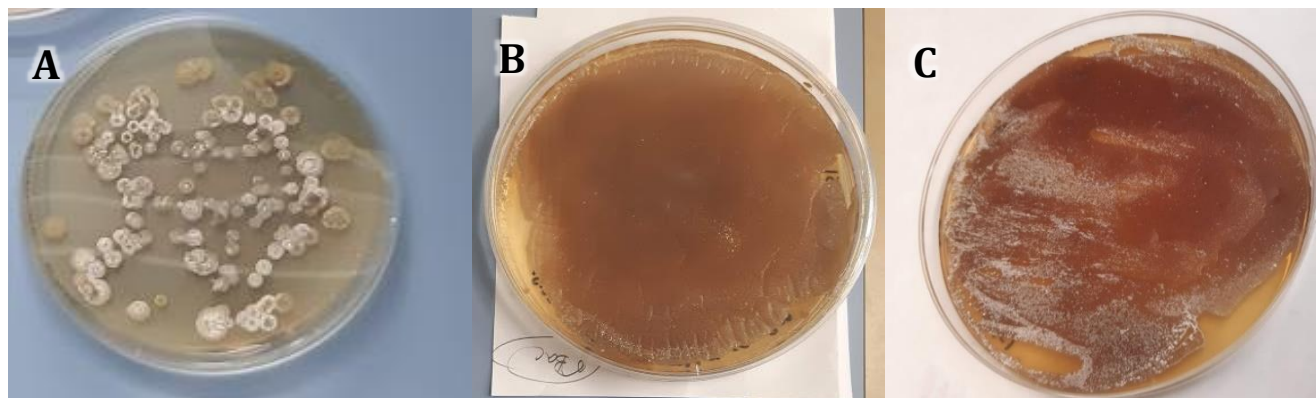


Figura 11. Crecimiento en placa de *S. sanyensis*. A: 5 días, B: 10 días y C: 15 días.

5.2.3. Purificación y elucidación de los metabolitos secundarios

La extracción de los metabolitos se llevó a cabo mediante una extracción sólido-líquido, con ayuda de un baño de ultrasonidos, tal y como se ha descrito previamente en el apartado de Materiales y Métodos (Figura 12).

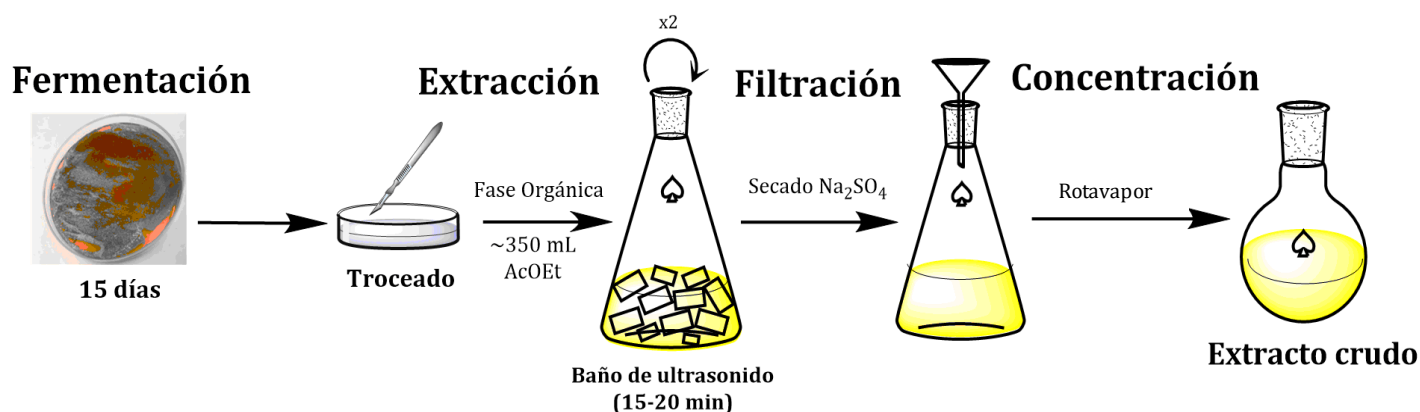


Figura 12. Procedimiento de fermentación y extracción sólido-líquido del cultivo de *S. sanyensis*

El eluato derivado de la extracción presentó una coloración amarillo oscuro con una tonalidad intensa, cuyas placas de CCF (Figura 13) eluídas con Hex/AcOEt al 50% y 80%, mostraron numerosas bandas de diferentes colores y factores de retención (R_f), apuntando a la presencia de numerosos compuestos de *S. sanyensis* en el extracto.

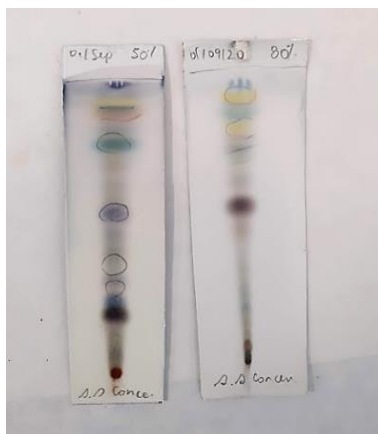


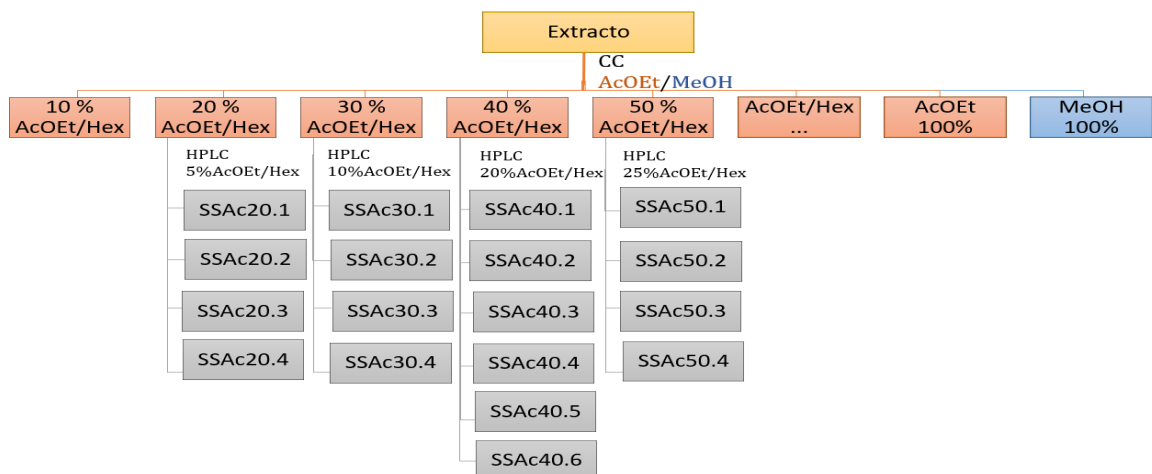
Figura 13. CCF del extracto de la fermentación de *S. sayensis* en ISP2.

Mezclas eluyentes: Hex/AcOEt 50% y 80%.

Para separar los compuestos anteriormente mencionados, el extracto crudo procedente de la extracción sólido-líquido se fraccionó mediante cromatografía en columna en doce fracciones (Tabla 5), las cuales fueron analizadas por RMN ^1H . De estas fracciones, sólo se purificaron mediante HPLC los extractos de acetato etilo de polaridad 20% a 50% (Esquema 2)

Tabla 4. Fracciones del extracto de *Streptomyces sayensis* obtenidos por CC.

Fracción	Volumen de eluyente (mL)	Nomenclatura	Peso (mg)
Hex/AcOEt 10%	150	SSAc10	37,83
Hex/AcOEt 20%	150	SSAc20	31,59
Hex/AcOEt 30%	150	SSAc30	18,23
Hex/AcOEt 40%	150	SSAc40	15,63
Hex/AcOEt 50%	150	SSAc50	23,69
Hex/AcOEt 60%	150	SSAc60	22,17
Hex/AcOEt 70%	150	SSAc70	16,14
Hex/AcOEt 80%	150	SSAc80	33,57
Hex/AcOEt 90%	150	SSAc90	10,45
AcOEt	150	SSAcOEt	5,78
MeOH	250	SSMet1	225,86
MeOH	450	SSMet2	5,78



Esquema 2. Purificación del extracto de *S. sanyensis*.

5.2.3.1. Fracción SSAc20

Esta fracción se analizó mediante RMN ^1H y cromatografía en capa fina, con Hex/AcOEt al 5% como fase móvil (Figura 14). Seguidamente se purificó mediante HPLC semipreparativo, con Hex/AcOEt al 5% como eluyente y flujo de 3mL/min, obteniéndose un total de 4 compuestos (Esquema 2). En la Tabla 6 se expresan los tiempos de retención y los pesos de los compuestos aislados. Un nuevo análisis por RMN ^1H de los tres productos mayoritarios aislados reveló que ninguno de ellos era de interés. Concretamente, los compuestos SSAc20.3 y SSAc20.4 resultaron ser grasas, las cuales presentan bajo interés biológico, por lo que se descartaron para continuar con la caracterización.



Figura 14. CCF Fracción SSAc20

Tabla 5. Datos HPLC de fracciones SSAc20

Fracción	Tiempo de Retención	Peso (mg)
1	25 min	1,66
2	45 min	0,52
3	81 min	2,62
4	90 min	5,53

5.2.3.2. Fracción SSAc30

Esta fracción fue estudiada por RMN ^1H y CCF, eluída con Hex/AcOEt al 25% (Figura 15). Posteriormente, se preparó la muestra para HPLC, eliminando la línea base mediante una pequeña columna de gel de sílice. Una vez obtenido el eluido, se pasó a través de filtro de teflón acoplado a jeringas de vidrio de 3 mL. Después de la preparación se sometió a HPLC semipreparativo, usando como eluyente Hex/AcOEt al 25% y flujo de 3mL/min, para dar 4 compuestos (Esquema 2). Los tres productos mayoritarios (Tabla 7) fueron analizados por RMN ^1H , sin que ninguno resultase de interés. Al igual que en la fracción anterior los compuestos SSAc30.3 y SSAc30.4 fueron grasas, por lo que se descartaron para continuar con la caracterización.



Figura 15. CCF Fracción

Tabla 6. Datos HPLC de fracciones SSAc30

Fracción	Tiempo de Retención	Peso (mg)
1	6 min	2,96
2	14 min	0,39
3	32 min	1,54
4	34 min	1,54

5.2.3.3. Fracción SSAc40

La fracción SSAc40 fue analizada, al igual que las anteriores, mediante RMN ^1H y CCF, con una fase móvil de Hex/AcOEt al 20% (Figura 16), y preparada para HPLC de la misma manera que se ha explicado anteriormente. Seguidamente se cromatografió en un HPLC semipreparativo, usando como eluyente la misma mezcla de disolventes que para la CCF y un flujo de 3mL/min. Se obtuvieron 6 compuestos, de los cuales solo el primero, con un tiempo de retención de 7 min, fue analizado por RMN ^1H , puesto que era el único con un peso apto (3,94 mg) para este análisis (Esquema 2). Nuevamente se trató de una grasa, por lo que se descartó para continuar con la caracterización.



Figura 16. CCF Fracción

5.2.3.4. Fracción SSAc50

Para el análisis de esta fracción se realizó RMN ^1H y CCF, con fase móvil de Hex/AcOEt al 25% (Figura 17). La preparación para HPLC se llevó a cabo como en las muestras precedentes. Seguidamente se purificó en HPLC semipreparativo, usando como fase móvil Hex/AcOEt al 25% y flujo 3 mL/min, para dar 4 compuestos (Esquema 2). Al igual que en la fracción SSAc40, sólo hubo un producto mayoritario, con un tiempo de retención de 7 min y un peso de 5,98 mg. Un análisis de este por RMN ^1H mostró que se trataba nuevamente de una grasa, por lo que también se descartó.

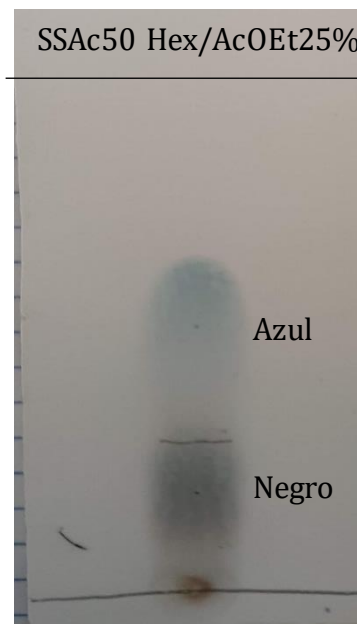


Figura 17. CCF Fracción SSAc50

De manera general, todas las muestras purificadas mediante HPLC fueron identificadas como grasas, cuyo valor biológico poco relevante llevó a descartarlas para su completa caracterización. Teniendo en cuenta que los extractos analizados en este proyecto fueron los de menor polaridad, se podría esperar que en las fracciones de mayor polaridad (AcOEt y MeOH) se encontrasen compuestos de más alto interés, dado que sus espectros de RMN ^1H mostraron de manera preliminar variedad estructural.

Se apoya la posibilidad de hallar mayor variedad estructural en las fracciones con mayor polaridad, con lo evidenciado durante la revisión bibliográfica, donde se al analizar los solventes utilizados para la obtención de metabolitos en *Streptomyces* (Figura 18), se ha evidenciado que luego del acetato de etilo (el cual solían usar en su mayoría puro), solventes de alta polaridad tuvieron mayor frecuencia en la obtención de distintas moléculas, entre ellos especialmente el metanol.

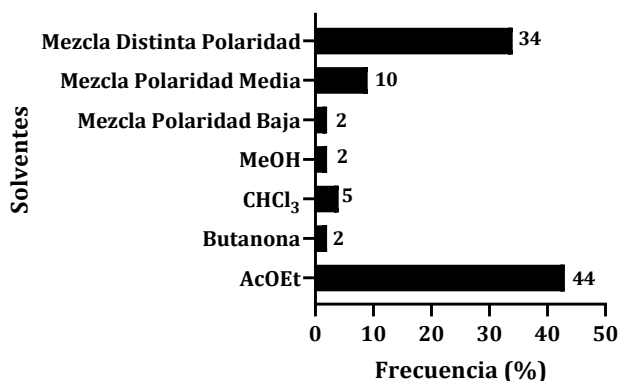


Figura 18. Frecuencia de solventes utilizados para la obtención de metabolitos en *Streptomyces* spp durante la revisión bibliográfica.

Mezclas: MeOH, Hex, AcOEt, CHCl₃.

Durante la revisión bibliográfica, se observó que las familias estructurales predominantes entre los metabolitos aislados de especies del género *Streptomyces*, fueron los policétidos, alcaloides y otros derivados como ácidos cinámicos y terpenos (Figura 19). En este gráfico de densidad poblacional, se aprecia que los compuestos tipo polioles y moléculas mixtas son minoritarios. Por tanto, se podría visionar que dentro de las fracciones no trabajadas durante el presente trabajo sea viable caracterizar metabolitos tipo alcaloides o policétidos.

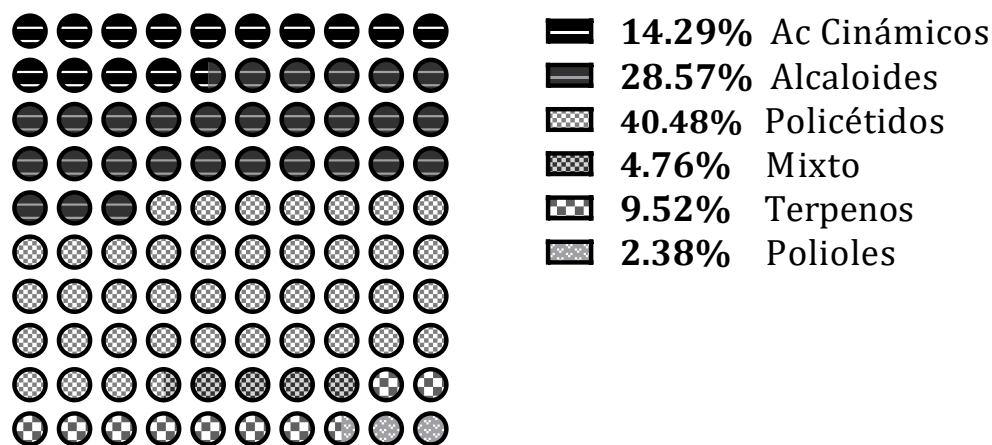


Figura 19. Densidad poblacional de las familias estructurales de las moléculas analizadas durante la revisión.

6. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta la metodología mixta que se ha llevado a cabo para este trabajo, se abordan las conclusiones para la revisión bibliográfica y para el estudio metabolómico de *Streptomyces sanyensis*

Revisión bibliográfica.

1. Las bacterias del género *Streptomyces* aisladas de entornos marinos son una potencial fuente de metabolitos con posibles actividades farmacológicas.
2. A nivel estructural, la diversidad química derivada de *Streptomyces* spp. presenta mayor frecuencia de moléculas pertenecientes a la familia de los policétidos y alcaloides.
3. Gracias a la naturaleza química de las moléculas obtenidas de *Streptomyces* spp., el mecanismo de acción de muchas de ellas tiene la versatilidad de actuar sobre distintas dianas biológicas, como son el material genético tanto de microorganismos patógenos de importancia clínica como de células cancerígenas.

Estudio metabolómico de *Streptomyces sanyensis*.

1. Durante la aproximación OSMAC realizada en *S. sanyensis*, se comprobó el potencial de medios de cultivo como el ISP2, rico en extracto de levadura y malta, como activadores de la biosíntesis de mayor variedad de metabolitos.
2. Gracias a la aproximación OSMAC, se observó que el tiempo de crecimiento de *S. sanyensis* no era un factor relevante para una mayor producción de metabolitos.
3. Todos los metabolitos aislados de *S. sanyensis* fueron identificadas como grasas.

7. PERSPECTIVAS DE FUTURO

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en el presente trabajo, se plantean diferentes propuestas para dar continuidad a esta línea de estudio.

En un principio, se plantea continuar con el aislamiento de los compuestos presentes en las fracciones más polares obtenidas por CC a partir del extracto de la fermentación de *S. sanyensis*, así como caracterizar todos los compuestos aislados que resulten de interés mediante técnicas instrumentales de Resonancia Magnética Nuclear, Espectroscopia Infrarroja y Espectrometría de Masas. De esta manera se tendría certeza del potencial metabolómico presente en esta bacteria gracias a los datos de las estructuras elucidadas.

Por otro lado, una vez caracterizados los compuestos aislados, se propone evaluar sus actividades biológicas con el fin de encontrar potenciales nuevas moléculas bioactivas que puedan ser utilizadas como compuestos cabezas de serie en el diseño y síntesis de nuevos fármacos. En este sentido, se podrían llevar a cabo estudios de relación estructura-actividad (SAR), que nos permitieran identificar la localización molecular de posibles farmacóforos que nos ayudasen a visionar futuras síntesis de derivados con un mayor espectro farmacológico.

Para finalizar, en relación con la profundización en el estudio metabólico de nuestra bacteria, queda abierto un gran abanico de escenarios diferentes en los que inducir la activación de rutas biosintéticas silentes y la consecuente producción de metabolitos crípticos potencialmente novedosos. Un ejemplo sería el empleo de otras técnicas químicas epigenéticas, tales como el cocultivo con otros microorganismos de reconocido potencial biotecnológico o la utilización de modificadores epigenéticos.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Hu, G.-P., Yuan, J., Sun, L., She, Z.-G., Wu, J.-H., Lan, X.-J., Zhu, X., Lin, Y.-C. and Chen, S.-P. 'Statistical research on marine natural products based on data obtained between 1985 and 2008'. *Mar. Drugs* vol. 9, págs. 514–525 (2011).
2. David, B., Wolfender, J. L. and Dias, D. A. 'The pharmaceutical industry and natural products: historical status and new trends'. *Phytochem. Rev.* vol. 14, págs. 299–315 (2015).
3. Qian, P. Y., Li, Z., Xu, Y., Li, Y. and Fusetani, N. 'Mini-review: Marine natural products and their synthetic analogs as antifouling compounds: 2009–2014'. *Biofouling* vol. 31, págs. 101–122 (2015).
4. Lane, A. L. and Moore, B. S. 'A sea of biosynthesis: Marine natural products meet the molecular age'. *Nat. Prod. Rep.* vol. 28, págs. 411–428 (2011).
5. Subramani, R. and Aalbersberg, W. 'Culturable rare Actinomycetes: Diversity, isolation and marine natural product discovery'. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* vol. 97, págs. 9291–9321 (2013).
6. Dewapriya, P. and Kim, S. kwon. 'Marine microorganisms: An emerging avenue in modern nutraceuticals and functional foods'. *Food Res. Int.* vol. 56, págs. 115–125 (2014).
7. Romano, G., Costantini, M., Sansone, C., Lauritano, C., Ruocco, N. and Ianora, A. 'Marine microorganisms as a promising and sustainable source of bioactive molecules'. *Mar. Environ. Res.* vol. 128, págs. 58–69 (2017).
8. Reig, E., Abejón, D. and Krames, E. S. 'Intrathecal Non-Opioid Analgesics for the Control of Pain'. in *Neuromodulation* vol. 1, págs. 467–481 (Elsevier Ltd, 2009).
9. Huryn, D. M. and Wipf, P. 'Natural product chemistry and cancer drug discovery'. in *Cancer Drug Design and Discovery: Second Edition* págs. 91–120 (Elsevier Inc., 2013). doi:10.1016/B978-0-12-396521-9.00003-6
10. Brinzeu, A., Berthiller, J., Caillet, J. B., Staquet, H. and Mertens, P. 'Ziconotide for spinal cord injury-related pain'. *Eur. J. Pain (United Kingdom)* vol. 23, págs. 1688–1700 (2019).
11. Verboom, M. C., Gelderblom, H., Kerst, J. M., Steeghs, N., Reyners, A. K. L., Sleijfer, S., Graaf, W. T. A. van der and Hout, W. B. van den. 'Survival and cost-effectiveness of trabectedin compared to ifosfamide monotherapy in advanced soft tissue sarcoma patients'. *Sarcoma* págs. 11 (2019). doi:10.1155/2019/3234205
12. Carroll, A. R., Copp, B. R., Davis, R. A., Keyzers, R. A. and Prinsep, M. R. 'Marine natural products'. *Nat. Prod. Rep.* vol. 36, págs. 122–173 (2019).
13. Ogawa, H., Iwasaki, A., Sumimoto, S., Iwatsuki, M., Ishiyama, A., Hokari, R., Otaguro, K., Omura, S. and Suenaga, K. 'Isolation and total synthesis of hoshinolactam, an antitrypanosomal lactam from a marine *Cyanobacterium*'. *Org. Lett.* vol. 19, págs. 890–893 (2017).

14. Liu, Z., Wang, Y., Xiaoqiang Jia, · and Lu, W. 'Isolation of secondary metabolites with antimicrobial activities from *Bacillus amyloliquefaciens* LWYZ003'. vol. 25, págs. 38–44 (1234).
15. Li, Q., Zhu, R., Yi, W., Chai, W., Zhang, Z. and Lian, X. Y. 'Penicphenalenins A–F from the culture of a marine-associated fungus *Penicillium* sp. ZZ901'. *Phytochemistry* vol. 152, págs. 53–60 (2018).
16. Encyclopedia of Life. 'Actinobacteria - Encyclopedia of Life'. Available at: <https://eol.org/pages/7861>. (Accessed: 11th May 2020)
17. Vienne, D. M. 'Lifemap: Exploring the Entire Tree of Life'. *PLoS Biol.* vol. 14, págs. e2001624 (2016).
18. Yi, W., Li, Q., Song, T., Chen, L., Li, X. C., Zhang, Z. and Lian, X. Y. 'Isolation, structure elucidation, and antibacterial evaluation of the metabolites produced by the marine-sourced *Streptomyces* sp. ZZ820'. *Tetrahedron* vol. 75, págs. 1186–1193 (2019).
19. Schleissner, C., Pérez, M., Losada, A., Rodríguez, P., Crespo, C., Zúñiga, P., Fernández, R., Reyes, F. and De La Calle, F. 'Antitumor actinopyranones produced by *Streptomyces albus* POR-04-15-053 isolated from a marine sediment'. *J. Nat. Prod.* vol. 74, págs. 1590–1596 (2011).
20. Yan, J. X., Chevrette, M. G., Braun, D. R., Harper, M. K., Currie, C. R. and Bugni, T. S. 'Madurastatin D1 and D2, oxazoline containing siderophores isolated from an *Actinomadura* sp.' *Org. Lett.* vol. 21, págs. 6275–6279 (2019).
21. He, T., Xu, C. and Zhang, X. 'Antitumor activities of secondary metabolites from marine microbe stress responses to virus infection'. in *Virus Infection and Tumorigenesis* págs. 285–318 (Springer Singapore, 2019). doi:10.1007/978-981-13-6198-2_9
22. Zhang, J., Li, B., Qin, Y., Karthik, L., Zhu, G., Hou, C., Jiang, L., Liu, M., Ye, X., Liu, M., Hsiang, T., Dai, H., Zhang, L. and Liu, X. 'A new abyssomicin polyketide with anti-influenza A virus activity from a marine-derived *Verrucosispora* sp. MS100137'. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* vol. 104, págs. 1533–1543 (2020).
23. El-Hossary, E. M., Cheng, C., Hamed, M. M., El-Sayed Hamed, A. N., Ohlsen, K., Hentschel, U. and Abdelmohsen, U. R. 'Antifungal potential of marine natural products'. *Eur. J. Med. Chem.* vol. 126, págs. 631 (2017)..
24. McCarthy, P. J., Roberts, B. F., Carbonell, A., Roberts, J., Wright, A. E. and Chakrabarti, D. 'Marine microbiome as a source of antimalarials'. *Trop. Med. Infect. Dis.* vol. 4, págs. 103 (2019).
25. Kido, M., Idogaki, H., Nishikawa, K., Motoishi, K. and Omasa, T. 'Screening of new cell cycle suppressive compounds from marine-derived microorganisms in Chinese hamster ovary cells'. *J. Biosci. Bioeng.* vol. 130, págs. 106–113 (2020).
26. Liu, Q.-Y., Zhou, T., Zhao, Y.-Y., Chen, L., Gong, M.-W., Xia, Q.-W., Ying, M.-G., Zheng, Q.-H. and

- Zhang, Q.-Q. 'Antitumor effects and related mechanisms of penicitrinine A, a novel alkaloid with a unique spiro skeleton from the marine fungus *Penicillium citrinum*'. *Mar. Drugs* vol. 13, págs. 4733–4753 (2015).
27. Ruocco, N., Costantini, S., Palumbo, F. and Costantini, M. 'Marine sponges and bacteria as challenging sources of enzyme inhibitors for pharmacological applications'. *Mar. Drugs* vol. 15, págs. 173 (2017).
 28. Kumari, S., Mohan Gavara ReaGene Biosciences, M., Malla, R., Kumar, A. B., Mohan, M. G. and Rao Malla, R. 'Antioxidant and antiproliferative potentials of marine actinomycetes'. *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* vol. 8, págs. 277–284 (2016).
 29. International Pharmaceutical Federation. *Hacer frente a las enfermedades no transmisibles en la comunidad La contribucion de los farmacéuticos*. (2019).
 30. 'Resistencia a los antibióticos'. Available at: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibióticos>. (Accessed: 14th May 2020)
 31. Manivasagan, P., Nam, S. Y. and Oh, J. 'Marine microorganisms as potential biofactories for synthesis of metallic nanoparticles'. *Crit. Rev. Microbiol.* vol. 42, págs. 1007–1019 (2016).
 32. Al-Dhabi, N. A., Mohammed Ghilan, A. K. and Arasu, M. V. 'Characterization of silver nanomaterials derived from marine *Streptomyces* sp. Al-Dhabi-87 and its in vitro application against multidrug resistant and extended-spectrum beta-lactamase clinical pathogens'. *Nanomaterials* vol. 8, (2018).
 33. Patil, M. P. and Kim, G. Do. 'Marine microorganisms for synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications'. *Colloid Surf. B-Biointerfaces* vol. 172, págs. 487–495 (2018)..
 34. Sui, J. L., Xu, X. X., Qu, Z., Wang, H. L., Lin, H. P., Xie, Q. Y., Ruan, J. S. and Hong, K. '*Streptomyces sanyensis* sp. nov., isolated from mangrove sediment'. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* vol. 61, págs. 1632–1637 (2011).
 35. Cartuche, L., Sifaoui, I., Cruz, D., Reyes-Batlle, M., López-Arencibia, A., Javier Fernández, J., Díaz-Marrero, A. R., Piñero, J. E. and Lorenzo-Morales, J. 'Staurosporine from *Streptomyces sanyensis* activates Programmed Cell Death in *Acanthamoeba* via the mitochondrial pathway and presents low *in vitro* cytotoxicity levels in a macrophage cell line'. *Sci. Rep.* vol. 9, págs. 1–12 (2019).
 36. Cartuche, L., Sifaoui, I., López-Arencibia, A., Bethencourt-Estrella, C. J., San Nicolás-Hernández, D., Lorenzo-Morales, J., Piñero, J. E., Díaz-Marrero, A. R. and Fernández, J. J. 'Antikinetoplastid activity of indolocarbazoles from *Streptomyces sanyensis*'. *Biomolecules* vol. 10, págs. 657 (2020).
 37. Okada, B. K. and Seyedsayamdost, M. R. 'Antibiotic dialogues: induction of silent biosynthetic gene clusters by exogenous small molecules'. *FEMS Microbiol. Rev.* vol. 035, págs. 19–33 (2017).

38. Abdelmohsen, U. R., Grkovic, T., Balasubramanian, S., Kamel, M. S., Quinn, R. J. and Hentschel, U. 'Elicitation of secondary metabolism in actinomycetes'. *Biotechnol. Adv.* vol. 33, págs. 798–811 (2015).
39. Záhner, H. 'Some Aspects of Antibiotics Research'. *Angew. Chemie Int. Ed. English* vol. 16, págs. 687–694 (1977).
40. Bode, H. B., Bethe, B., Höfs, R. and Zeeck, A. 'Big effects from small changes: Possible ways to explore nature's chemical diversity'. *ChemBioChem* vol. 3, págs. 619–627 (2002).
41. Zarins-Tutt, J. S., Barberi, T. T., Gao, H., Mearns-Spragg, A., Zhang L., Newman, D. J. and Goss, R. J. M. 'Prospecting for new bacterial metabolites: A glossary of approaches for inducing, activating and upregulating the biosynthesis of bacterial cryptic or silent natural products'. *Nat. Prod. Rep.* vol. 33, págs. 54–72 (2016).
42. Pan, R., Bai, X., Chen, J., Zhang, H. and Wang, H. 'Exploring structural diversity of microbe secondary metabolites using OSMAC strategy: A literature review'. *Front. Microbiol.* vol. 10, págs. 294 (2019).
43. Romano, S., Jackson, S. A., Patry, S. and W Dobson, A. D. 'Extending the "One Strain Many Compounds" (OSMAC) Principle to Marine Microorganisms'. *Mar. Drugs* vol. 16, págs. 244 (2018).
44. English, A. L., Boufridi, A., Quinn, R. J., Kurtb, D. I. and Oke. 'Evaluation of fermentation conditions triggering increased antibacterial activity from a near-shore marine intertidal environment-associated *Streptomyces* species'. *Synth. Syst. Biotechnol.* vol. 2, págs. 28–38 (2017).
45. Adnani, N., Vazquez-Rivera, E., Adibhatla, S., Ellis, G., Braun, D. and Bugni, T. 'Investigation of interspecies interactions within marine micromonosporaceae using an improved co-culture approach'. *Mar. Drugs* vol. 13, págs. 6082–6098 (2015).
46. Dashti, Y., Grkovic, T., Abdelmohsen, U., Hentschel, U. and Quinn, R. 'Production of induced secondary metabolites by a co-culture of sponge-associated actinomycetes, *Actinokineospora* sp. EG49 and *Nocardiopsis* sp. RV163'. *Mar. Drugs* vol. 12, págs. 3046–3059 (2014).
47. Trivella, D. B. B. and De Felicio, R. 'The tripod for bacterial natural product discovery: genome mining, silent pathway induction, and mass spectrometry-based molecular networking'. (2018). doi:10.1128/mSystems.00160-17
48. Seyedsayamdost, M. R. 'High-Throughput platform for the discovery of elicitors of silent bacterial gene clusters'. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* vol. 111, págs. 7266–7271 (2014).
49. Luo, Y., Huang, H., Liang, J., Wang, M., Lu, L., Shao, Z., Cobb, R. E. and Zhao, H. 'Activation and characterization of a cryptic polycyclic tetramate macrolactam biosynthetic gene cluster'. *Nat. Commun.* vol. 4, págs. 1–8 (2013).

50. Zhang, P., Wei, Q., Yuan, X. and Xu, K. 'Newly reported alkaloids produced by marine-derived *Penicillium* species (covering 2014–2018)'. *Bioorg. Chem.* vol. 99, págs. 103840 (2020).).
51. Sanitarios, A. E. de M. y P. 'Listados de principios activos por grupos ATC - Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios'. Available at: https://www.aemps.gob.es/cuidadania/medicamentos-y-conduccion/industria_etiquetado_conduccion_listadosprincipios/. (Accessed: 31st August 2020)
52. Arahal, D. R., Sánchez, E., Macián, M. C. and Garay, E. 'Value of recN sequences for species identification and as a phylogenetic marker within the family "Leuconostocaceae"'. *Int. Microbiol.* vol. 11, págs. 33–39 (2008).
53. Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H. and Chun, J. 'Introducing EzBioCloud: A taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies'. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* vol. 67, págs. 1613–1617 (2017).
54. Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D. J. 'Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs'. *Nucleic Acids Res.* vol. 25, págs. 3389–3402 (1997)..
55. Shirling, E. B. and Gottlieb, D. 'Methods for characterization of *Streptomyces* species'. *Int. J. Syst. Bacteriol.* vol. 16, págs. 313–340 (1966).
56. Salud, I. N. de and Ministerio de Sanidad, C. y B. S. *Sistema de codificación de principios activos y Dosis Diarias Definidas del INSALUD 2.ª edición Actualizada y revisada.* (2002).
57. Xu, X., Han, J., Lin, R., Polyak, S. W. and Song, F. 'Two new piperazine-triones from a marine-derived *Streptomyces* sp. Strain Sms636'. *Mar. Drugs* vol. 17, págs. 186 (2019).
58. Abdelfattah, M. S. 'A new bioactive aminophenoxazinone alkaloid from a marine-derived actinomycete'. *Nat. Prod. Res.* vol. 27, págs. 2126–2131 (2013).
59. Kim, S. H., Shin, Y., Lee, S. K., Shin, J. and Oh, D. C. 'Salternamide E from a saltern-derived marine actinomycete *Streptomyces* sp'. *Nat. Prod. Sci.* vol. 21, págs. 273–277 (2015).
60. Sun, Y., Carandang, R., Harada, Y., Okada, S., Yoshitake, K., Asakawa, S., Nogi, Y., Matsunaga, S. and Takada, K. 'Lactomycins A–C, dephosphorylated phoslactomycin derivatives that inhibit cathepsin B, from the marine-derived *Streptomyces* sp. ACT232'. *Mar. Drugs* vol. 16, págs. 70 (2018)..
61. Lacret, R., Oves-Costales, D., Gómez, C., Díaz, C., De La Cruz, M., Pérez-Victoria, I., Vicente, F., Genilloud, O. and Reyes, F. 'New ikarugamycin derivatives with antifungal and antibacterial properties from *Streptomyces zhaozhouensis*'. *Mar. Drugs* vol. 13, págs. 128–140 (2015).
62. de Kraker, M. E. A., Jarlier, V., Monen, J. C. M., Heuer, O. E., van de Sande, N. and Grundmann, H. 'The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: Trends from the European antimicrobial

- resistance surveillance system'. *Clin. Microbiol. Infect.* vol. 19, págs. 860–868 (2013).
63. Guggenbichler, J. P., Assadian, O., Boeswald, M. and Kramer, A. 'Incidence and clinical implication of nosocomial infections associated with implantable biomaterials - catheters, ventilator-associated pneumonia, urinary tract infections.' *GMS Krankenhaushygiene Interdiszip.* vol. 6, págs. Doc18–Doc18 (2011).
 64. Bilbao, N., Zuzendaria, B. and Peña, E. S. *Estado actual de las resistencias de Candida a los fármacos antifúngicos y estudio de los mecanismos implicados.*
 65. Centers for Disease Control and Prevention. 'Antifungal Resistance in *Candida* | Fungal Diseases | CDC'. Available at: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/candidiasis/antifungal-resistant.html>. (Accessed: 8th December 2020)
 66. Center. 'Aspergillosis | Types of Fungal Diseases | Fungal Diseases | CDC'. Available at: <https://www.cdc.gov/fungal/diseases/aspergillosis/index.html>. (Accessed: 8th December 2020)
 67. Centers for Disease Control and Prevention. 'Biggest threats and data | Antibiotic/Antimicrobial Resistance | CDC'. Available at: <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>. (Accessed: 9th December 2020)
 68. Centers for Disease Control and Prevention. '*Salmonella* and Food'. *Food Safety* Available at: <https://www.cdc.gov/foodsafety/communication/salmonella-food.html>. (Accessed: 9th December 2020)
 69. Centers for Disease Control and Prevention. '*Bacillus cereus* -- Maine'. Available at: <https://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00000754.htm>. (Accessed: 9th December 2020)
 70. Centers for Disease Control and Prevention. *Multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa.*
 71. O'Hara, C. M., Brenner, F. W., Steigerwalt, A. G., Hill, B. C., Holmes, B., Grimont, P. A. D., Hawkey, P. M., Penner, J. L., Miller, J. M. and Brenner, D. J. 'Classification of *Proteus vulgaris* biogroup 3 with recognition of *Proteus hauseri* sp. nov., nom. rev. and unnamed *Proteus* genomospecies 4, 5 and 6'. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* vol. 50, págs. 1869–1875 (2000).
 72. Infante, J. M. and Lanz, L. G. 'Area quirúrgica - Introducción'. *Med. Clin.* vol. 124, págs. 16–17 (2005).
 73. Cantón, R., Paz, M. and Moreno, S. *Proteus penneri.*
 74. Silva, F. '*Kocuria* spp'. *Rev. Chil. Infectol.* vol. 29, págs. 216 (2012).
 75. Ahmad, S., Nazir, M., Tousif, M. I., Saleem, M., Mustafa, R. and Khatoon, T. 'A New polyketide antibiotic from the marine bacterium *Streptomyces* sp. PGC 32'. *Chem. Nat. Compd.* vol. 55, págs. 5–7 (2019).

76. Shanthi, J., Senthil, A., Gopikrishnan, V. and Balagurunathan, R. 'Characterization of a potential β -lactamase inhibitory metabolite from a marine *Streptomyces* sp. PM49 Active Against Multidrug-Resistant Pathogens'. *Appl. Biochem. Biotechnol.* vol. 175, págs. 3696–3708 (2015).
77. Pan, H.-Q., Zhang, S.-Y., Wang, N., Li, Z.-L., Hua, H.-M., Hu, J.-C. and Wang, S.-J. 'New spirotetronate antibiotics, Lobophorins H and I, from a South China Sea-derived *Streptomyces* sp. 12A35'. *Mar. Drugs* vol. 11, págs. 3891–3901 (2013).
78. Kandula, S. K. and Terli, R. 'Production, purification and characterization of an antimicrobial compound from marine *Streptomyces coeruleorubidus* BTSS-301'. *J. Pharm. Res.* vol. 7, págs. 397–403 (2013).
79. Monteiro de Oliveira, J. A., Williams, D. E., Andersen, R. J., Sarragiotto, M. H. and Baldoqui, D. C. 'Mycenolide A, new butenolide from a marine sediment-derived bacterium *Streptomyces* sp. 4054'. *Nat. Prod. Res.* vol. 34, págs. 2986–2989 (2020).
80. Cao, D.-T., Nguyen, T.-L., Tran, V.-H., Doan-Thi-Mai, H., Vu-Thi, Q., Nguyen, M.-A., Le-Thi, H.-M., Chau, V.-M. and Pham, V.-C. 'synthesis, structure and antimicrobial activity of novel metabolites from a marine actinomycete in Vietnam's East Sea'. *Nat. Prod. Commun.* vol. 14, págs. 1934578X1901400 (2019).
81. Bae, M., Chung, B., Oh, K.-B., Shin, J. and Oh, D.-C. 'Hormaomycins B and C: New antibiotic cyclic depsipeptides from a marine mudflat-derived *Streptomyces* sp.'. *Mar. Drugs* vol. 13, págs. 5187–5200 (2015).
82. Ravi, L. and Kannabiran, K. 'Extraction and identification of Gancidin W from marine *Streptomyces* sp. VITLGK012'. *Indian J. Pharm. Sci.* vol. 80, págs. 1093–1099 (2018)..
83. Zhou, X., Huang, H., Li, J., Song, Y., Jiang, R., Liu, J., Zhang, S., Hua, Y. and Ju, J. 'New anti-infective cycloheptadepsipeptide congeners and absolute stereochemistry from the deep sea-derived *Streptomyces drozdowiczii* SCSIO 10141'. *Tetrahedron* vol. 70, págs. 7795–7801 (2014).
84. Organization, W. H. 'WHO | Responding to antimalarial drug resistance'. Available at: https://www.who.int/malaria/areas/drug_resistance/overview/en/. (Accessed: 9th December 2020)
85. Centers for Disease Control and Prevention. 'CDC - Malaria - Malaria Worldwide - How Can Malaria Cases and Deaths Be Reduced? - Drug resistance in the Malaria Endemic World'. (2019).
86. Cheng, K. C. C., Cao, S., Raveh, A., MacArthur, R., Dranchak, P., Chlipala, G., Okoneski, M. T., Guha, R., Eastman, R. T., Yuan, J., Schultz, P. J., Su, X. Z., Tamayo-Castillo, G., Matainaho, T., Clardy, J., Sherman, D. H. and Inglese, J. 'Actinoramide A identified as a potent antimalarial from titration-based screening of marine natural product extracts'. *J. Nat. Prod.* vol. 78, págs. 2411–2422 (2015).

87. Zafirir Ilan, E., Torres, M. R., Prudhomme, J., Le Roch, K., Jensen, P. R. and Fenical, W. 'Farnesides A and B, sesquiterpenoid nucleoside ethers from a marine-derived *Streptomyces* sp., strain CNT-372 from Fiji'. *J. Nat. Prod.* vol. 76, págs. 1815–1818 (2013).
88. Huang, H., Song, Y., Li, X., Wang, X., Ling, C., Qin, X., Zhou, Z., Li, Q., Wei, X. and Ju, J. 'Abyssomicin Monomers and Dimers from the Marine-Derived *Streptomyces koyangensis* SCSIO 5802'. *J. Nat. Prod.* vol. 81, págs. 1892–1898 (2018).
89. The Center for Food Security and Public Health and Institute for International cooperation in animal biologics. 'Estomatitis Vesicular'. (2009).
90. Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A. and Jemal, A. 'Global cancer statistics 2018: Estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries'. *CA Cancer J. Clin.* vol. 68, págs. 394–424 (2018).
91. World Health Organization. *Cancer Profile 2020*. (2002).
92. Cancer, I. A. for R. on and Organization, W. H. 'Top cancer per country, estimated age-standardized incidence rates (World) in 2018, both sexes, all ages'. *Cancer Today* Available at: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-map?v=2018&mode=cancer&mode_population=continents&population=900&populations=900&key=asr&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=10&group_. (Accessed: 14th December 2020)
93. Antoni, S., Soerjomataram, I., Møller, B., Bray, F. and Ferlay, J. 'Évaluation des méthodes GLOBOCAN pour établir des estimations nationales de l'incidence du cancer'. *Bull. World Health Organ.* vol. 94, págs. 174–184 (2016).
94. System, E. C. I. '2020 Cancer incidence and mortality in EU-27 countries | EU Science Hub'. Available at: <https://ec.europa.eu/jrc/en/news/2020-cancer-incidence-and-mortality-eu-27-countries>. (Accessed: 14th December 2020)
95. Borgo, C. and Ruzzene, M. 'Role of protein kinase CK2 in antitumor drug resistance'. *J. Exp. Clin. Cancer Res.* vol. 38, págs. 1–15 (2019).
96. Garg, R., Benedetti, L. G., Abera, M. B., Wang, H., Abba, M. and Kazanietz, M. G. 'Protein kinase C and cancer: What we know and what we do not'. *Oncogene* vol. 33, págs. 5225–5237 (2014).
97. Schwartz-Roberts, J. L. and Clarke, R. 'Blockage of Lysosomal Degradation Is Detrimental to Cancer Cell Survival: Role of Autophagy Activation'. in *Autophagy: Cancer, Other Pathologies, Inflammation, Immunity, Infection, and Aging* vol. 5, págs. 121–133 (Elsevier Inc., 2015).
98. Xia, F., Zeng, L., Yao, X. R. and Zhou, B. J. 'Hepatic Apoptosis and Necrosis: Mechanisms and Clinical Relevance'. in *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants* págs. 47–60 (Elsevier,

2017). doi:10.1016/B978-0-12-804274-8.00003-5

99. Hevener, K. E., Verstak, T. A., Lutat, K. E., Riggsbee, D. L. and Mooney, J. W. 'Recent developments in topoisomerase-targeted cancer chemotherapy'. *B* vol. 8, págs. 844–861 (2018).
100. Beyer, Baukloh, Stoyanova, Kamphues, Sattler and Kotsch. 'Interactions of Tumor Necrosis Factor-Related Apoptosis-Inducing Ligand (TRAIL) with the Immune System: Implications for Inflammation and Cancer'. *Cancers (Basel)*. vol. 11, págs. 1161 (2019).
101. Ravi, L. and Krishnan, K. 'Benzoyloxy-ethyl-carbamic acid: A novel anticancerous secondary metabolite produced by *Streptomyces globosus* VITLGK011'. *undefined* (2017).
102. Abdelfattah, M. S., Elmallah, M. I. Y., Mohamed, A. A. and Ishibashi, M. 'Sharkquinone, a new ana-quinonoid tetracene derivative from marine-derived *Streptomyces* sp. EGY1 with TRAIL resistance-overcoming activity'. *J. Nat. Med.* vol. 71, págs. 564–569 (2017).
103. Khan, N., Yilmaz, S., Aksoy, S., Uzel, A., Tosun, Ç., Kirmizibayrak, P. B. and Bedir, E. 'Polyethers isolated from the marine actinobacterium *Streptomyces cacaoi* inhibit autophagy and induce apoptosis in cancer cells'. *Chem. Biol. Interact.* vol. 307, págs. 167–178 (2019).
104. Nachtigall, J., Schneider, K., Bruntner, C., Bull, A. T., Goodfellow, M., Zinecker, H., Imhoff, J. F., Nicholson, G., Irran, E., Süssmuth, R. D. and Fiedler, H. P. 'Benzoxacystol, a benzoxazine -type enzyme inhibitor from the deep-sea strain *Streptomyces* sp. NTK 935'. *J. Antibiot. (Tokyo)*. vol. 64, págs. 453–457 (2011).
105. Abdelfattah, M. S. 'A new bioactive aminophenoxazinone alkaloid from a marine-derived actinomycete'. *Nat. Prod. Res.* vol. 27, págs. 2126–2131 (2013).
106. Naine, S. J., Devi, C. S., Mohanasrinivasan, V., Doss, C. G. P. and Kumar, D. T. 'Binding and molecular dynamic studies of sesquiterpenes (2R-acetoxymethyl-1,3,3-trimethyl-4t-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1t-cyclohexanol) derived from marine *Streptomyces* sp. VITJS8 as potential anticancer agent'. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* vol. 100, págs. 2869–2882 (2016)
107. Zhou, B., Qin, L. Le, Ding, W. J. and Ma, Z. J. 'Cytotoxic indolocarbazoles alkaloids from the *Streptomyces* sp. A65'. *Tetrahedron* vol. 74, págs. 726–730 (2018).
108. Tarazona, G., Schleissner, C., Rodríguez, P., Pérez, M., Cañedo, L. M. and Cuevas, C. 'Streptenols F-I Isolated from the marine-derived *Streptomyces misionensis* BAT-10-03-023'. *J. Nat. Prod.* vol. 80, págs. 1034–1038 (2017).
109. Lee, J. H., Zhang, C., Ko, J. Y., Lee, J. S. and Jeon, Y. J. 'Evaluation on anticancer effect against HL-60 cells and toxicity *in vitro* and *in vivo* of the phenethyl acetate isolated from a marine bacterium *Streptomyces griseus*'. *Fish. Aquat. Sci.* vol. 18, págs. 35–44 (2015).
110. Manikandan, M., Gowdaman, V., Duraimurugan, K. and Prabakaran, S. R. 'Taxonomic

- characterization and antimicrobial compound production from *Streptomyces chumphonensis* BDK01 isolated from marine sediment'. *3 Biotech* vol. 9, págs. 167 (2019).
111. Andryukov, B., Mikhailov, V. and Besednova, N. 'The biotechnological potential of secondary metabolites from marine bacteria'. *J. Mar. Sci. Eng.* vol. 7, págs. 176 (2019).
 112. Organization, W. H. 'Cáncer'. Available at: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. (Accessed: 14th December 2020)
 113. Pérez-Victoria, I., Oves-Costales, D., Lacret, R., Martín, J., Sánchez-Hidalgo, M., Díaz, C., Cautain, B., Vicente, F., Genilloud, O. and Reyes, F. 'Structure elucidation and biosynthetic gene cluster analysis of caniferolides A-D, new bioactive 36-membered macrolides from the marine-derived: *Streptomyces caniferus* CA-271066'. *Org. Biomol. Chem.* vol. 17, págs. 2954–2971 (2019).
 114. Shaaban, K. A., Shaaban, M., Meiners, M., Schöffler, A., Kelter, G., Fiebig, H. H. and Laatsch, H. 'Boshramycinones A-C: New anthracyclinones produced by a marine-derived *Streptomyces* sp.: isolation, structure elucidation and biological activities'. *Nat. Prod. Res.* (2019). doi:10.1080/14786419.2019.1645658
 115. Zhang, D., Jiang, Y., Li, J., Ding, W., Chen, Z. and Ma, Z. 'Thioquinomycins A-D, novel naphthothiophenediones from the marine-derived *Streptomyces* sp. SS17F'. *Tetrahedron* vol. 74, págs. 6150–6154 (2018).
 116. Iniyar, A. M., Sudarman, E., Wink, J., Kannan, R. R. and Vincent, S. G. P. 'Ala-geninthiocin, a new broad spectrum thiopeptide antibiotic, produced by a marine *Streptomyces* sp. ICN19'. *J. Antibiot (Tokyo)*. vol. 72, págs. 99–105 (2019).
 117. Arasu, M. V., Duraipandian, V. and Ignacimuthu, S. 'Antibacterial and antifungal activities of polyketide metabolite from marine *Streptomyces* sp. AP-123 and its cytotoxic effect'. *Chemosphere* vol. 90, págs. 479–487 (2013).
 118. Siddharth, S. and Vittal, R. R. 'Isolation, characterization, and structural elucidation of 4-methoxyacetanilide from marine actinobacteria *Streptomyces* sp. SCA29 and evaluation of its enzyme inhibitory, antibacterial, and cytotoxic potential'. *Arch. Microbiol.* vol. 201, págs. 737–746 (2019).
 119. Phi Thi, D., Doan Thi Mai, H., Cao, D. D., Vu Thi, Q., Nguyen, M. A., Le Thi, H. M., Tran, D. T., Chau, V. M. and Pham, V. C. 'Novel 1,3-Benzodioxole From Marine-Derived Actinomycete in East Vietnam Sea'. *Nat. Prod. Commun.* vol. 15, págs. 1934578X2092004 (2020).
 120. Zhang, W., Zhang, G., Zhang, L., Liu, W., Jiang, X., Jin, H., Liu, Z., Zhang, H., Zhou, A. and Zhang, C. 'New polycyclic tetramate macrolactams from marine-derived *Streptomyces* sp. SCSIO 40060'. *Tetrahedron* vol. 74, págs. 6839–6845 (2018).

121. Moon, K., Ahn, C.-H., Shin, Y., Won, T., Ko, K., Lee, S., Oh, K.-B., Shin, J., Nam, S.-I. and Oh, D.-C. 'New benzoxazine secondary metabolites from an arctic actinomycete'. *Mar. Drugs* vol. 12, págs. 2526–2538 (2014).
122. Asolkar, R. N., Singh, A., Jensen, P. R., Aalbersberg, W., Carté, B. K., Feussner, K. D., Subramani, R., DiPasquale, A., Rheingold, A. L. and Fenical, W. 'Marinocyanins, cytotoxic bromo-phenazinone meroterpenoids from a marine bacterium from the streptomycete clade MAR4'. *Tetrahedron* vol. 73, págs. 2234–2241 (2017).
123. World Health Organization. *Neurological disorders public health challenges WHO Library Cataloguing-in-Publication Data*. (2006).
124. Raggi, A. and Leonardi, M. 'Burden and cost of neurological diseases: a European North-South comparison'. *Acta Neurol. Scand.* vol. 132, págs. 16–22 (2015).
125. Of, N. I. and Sciences, E. H. 'Neurodegenerative Diseases'. Available at: <https://www.niehs.nih.gov/research/supported/health/neurodegenerative/index.cfm>. (Accessed: 16th December 2020)
126. Durães, F., Pinto, M. and Sousa, E. 'Old drugs as new treatments for neurodegenerative diseases'. *Pharmaceuticals* vol. 11, (2018).
127. Kiaei, M. 'New hopes and challenges for treatment of neurodegenerative disorders: Great opportunities for young neuroscientists'. *Basic Clin. Neurosci.* vol. 4, págs. 3–4 (2013).
128. Hasan, S., Ansari, M., Ahmad, A. and Mishra, M. 'Major bioactive metabolites from marine fungi: A Review'. *Bioinformation* vol. 11, págs. 176–181 (2015).
129. Motohashi, K., Toda, T., Sue, M., Furihata, K., Shizuri, Y., Matsuo, Y., Kasai, H., Shin-Ya, K., Takagi, M., Izumikawa, M., Horikawa, Y. and Seto, H. 'Isolation and structure elucidation of tumescenamides A and B, two peptides produced by *Streptomyces tumescens* YM23-260'. *J. Antibiot. (Tokyo)*. vol. 63, págs. 549–552 (2010).
130. Shin, H. J., Choi, B. G., Lee, H. S., Lee, H. S., Lee, Y. J., Lee, J. S. and Lee, J. H. 'Novel compound derived from *Streptomyces* for treating neurodegenerative disease.' *Repub. Korean Kongkae Taebo Kongbo* págs. 17pp.; Chemical Indexing Equivalent to 172:345269 (2020).
131. Okin, D. and Medzhitov, R. 'Evolution of inflammatory diseases'. *Cur. Biol.* vol. 22, págs. R733–R740 (2012).
132. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. 'Grupo M de la clasificación ATC - Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios'. Available at: https://www.aemps.gob.es/cuidadania/medicamentos-y-conduccion/industria_etiquetado_conduccion_listadosprincipios/grupo-m/. (Accessed: 16th

December 2020)

133. Sharma, J. N., Al-Omran, A. and Parvathy, S. S. 'Role of nitric oxide in inflammatory diseases'. *Inflammopharmacology* vol. 15, págs. 252–259 (2007).
134. Bae, M., Park, S. H., Kwon, Y., Lee, S. K., Shin, J., Nam, J. W. and Oh, D. C. 'QM-HiFSA-aided structure determination of succinilenes A-D, new triene polyols from a marine-derived *Streptomyces* sp.' *Mar. Drugs* vol. 15, (2017).
135. Liu, Y. C., Zou, X. B., Chai, Y. F. and Yao, Y. M. 'Macrophage polarization in inflammatory diseases'. *Int. J. Biol. Sci.* vol. 10, págs. 520–529 (2014).
136. Lee, D. S., Yoon, C. S., Jung, Y. T., Yoon, J. H., Kim, Y. C. and Oh, H. 'Marine-derived secondary metabolite, Griseusrazin A, suppresses inflammation through heme oxygenase-1 induction in activated RAW264.7 macrophages'. *J. Nat. Prod.* vol. 79, págs. 1105–1111 (2016).
137. World Health Organization. 'Diabetes'. Available at: https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1. (Accessed: 16th December 2020)
138. Almeida, E. L., Kaur, N., Jennings, L. K., Rincón, A. F. C., Jackson, S. A., Thomas, O. P. and Dobson, A. D. W. 'Genome mining coupled with OSMAC-based cultivation reveal differential production of surugamide A by the marine sponge isolate *Streptomyces* sp. SM17 when compared to its terrestrial relative *S. albidoflavus* j1074'. *Microorganisms* vol. 7, págs. 394 (2019).
139. Martín, J. F., Sola-Landa, A., Santos-Beneit, F., Fernández-Martínez, L. T., Prieto, C. and Rodríguez-García, A. 'Cross-talk of global nutritional regulators in the control of primary and secondary metabolism in *Streptomyces*'. *Microb. Biotechnol.* vol. 4, págs. 165–174 (2011).
140. Netzker, T., Fischer, J., Weber, J., Mattern, D. J., König, C. C., Valiante, V., Schroeckh, V. and Brakhage, A. A. 'Microbial communication leading to the activation of silent fungal secondary metabolite gene clusters'. *Front. Microbiol.* vol. 6, págs. 299 (2015).
141. VanderMolen, K. M., Raja, H. A., El-Elmat, T. and Oberlies, N. H. 'Evaluation of culture media for the production of secondary metabolites in a natural products screening program'. *AMB Express* vol. 3, págs. 1–7 (2013).
142. Pan, R., Bai, X., Chen, J., Zhang, H. and Wang, H. 'Exploring structural diversity of microbe secondary metabolites using OSMAC strategy: A literature review'. *Front. Microbiol.* vol. 10, págs. 294 (2019).
143. Turrini, E., Maffei, F., Milelli, A., Calcabrini, C. and Fimognari, C. 'Overview of the Anticancer Profile of Avenanthramides from Oat'. *Int. J. Mol. Sci.* vol. 20, págs. 4536 (2019).
144. Hu, C. and Sang, S. 'Triterpenoid Saponins in Oat Bran and Their Levels in Commercial Oat Products'. *J. Agric. Food Chem.* vol. 68, págs. 6381–6389 (2020).

145. Sun, S. Y., Jiang, W. G. and Zhao, Y. P. 'Profile of Volatile Compounds in 12 Chinese Soy Sauces Produced by a High-Salt-Diluted State Fermentation'. *J. Inst. Brew.* vol. 116, págs. 316–328 (2010).
146. Cardoso Umbelino Cavallini, D., Jovenasso Manzoni, M., Bedani, R., Roselino, M., Celiberto, L., Vendramini, R., de Valdez, G., Saes Parra Abdalla, D., Aparecida Pinto, R., Rosetto, D., Roberto Valentini, S. and Antonio Rossi, E. 'Probiotic soy product supplemented with isoflavones improves the lipid profile of moderately hypercholesterolemic men: A randomized controlled trial'. *Nutrients* vol. 8, págs. 52 (2016).
147. Racca, R. W. *Inoculación en soja: una herramienta fundamental para maximizar la productividad*.
148. Vitale, G. A., Sciarretta, M., Cassiano, C., Buonocore, C., Festa, C., Mazzella, V., Núñez Pons, L., D'Auria, M. V. and de Pascale, D. 'Molecular network and culture media variation reveal a complex metabolic profile in *Pantoea* cf. *eucrina* D2 associated with an acidified marine sponge'. *Int. J. Mol. Sci.* vol. 21, págs. 6307 (2020).
149. Wang, D., Wang, C., Gui, P., Liu, H., Khalaf, S. M. H., Elsayed, E. A., Wadaan, M. A. M., Hozzein, W. N. and Zhu, W. 'Identification, bioactivity, and productivity of actinomycins from the marine-derived *Streptomyces heliomycini*'. *Front. Microbiol.* vol. 8, págs. 1147 (2017).
150. Almasi, F., Mohammadipannah, F., Adhami, H. R. and Hamed, J. 'Introduction of marine-derived *Streptomyces* sp. UTM 1334 as a source of pyrrole derivatives with anti-acetylcholinesterase activity'. *J. Appl. Microbiol.* vol. 125, págs. 1370–1382 (2018).
151. Das, S., Ward, L. R. and Burke, C. 'Screening of marine *Streptomyces* spp. for potential use as probiotics in aquaculture'. *Aquaculture* vol. 305, págs. 32–41 (2010).
152. Yan, X., Sims, J., Wang, B. and Hamann, M. T. 'Marine actinomycete *Streptomyces* sp. ISP2-49E, a new source of Rhamnolipid'. *Biochem. Syst. Ecol.* vol. 55, págs. 292–295 (2014).
153. Xiong, Z.-Q., Wang, J.-F., Hao, Y.-Y. and Wang, Y. 'Recent advances in the discovery and development of marine microbial natural products'. *Mar. Drugs* vol. 11, págs. 700–717 (2013).
154. Vartoukian, S. R., Palmer, R. M. and Wade, W. G. 'Strategies for culture of "unculturable" bacteria'. *FEMS Microbiol. Lett.* vol. 309, págs. no-no (2010).
155. Claverías, F. P., Undabarrena, A., González, M., Seeger, M. and Cámara, B. 'Culturable diversity and antimicrobial activity of Actinobacteria from marine sediments in Valparaíso bay, Chile'. *Front. Microbiol.* vol. 6, págs. 737 (2015).

9. PROPUESTA

Dada la gran biodiversidad del medio marino y sus especiales condiciones físico-químicas, este medio constituye una fuente escasamente estudiada de moléculas estructuralmente únicas, que difieren considerablemente de aquéllas derivadas de organismos terrestres y con interesantes actividades biológicas con posible interés industrial. De hecho, un elevado número de compuestos antitumorales de origen marino en fase de ensayos clínicos o ya aprobados como fármacos derivan de fuentes microbianas, por lo que parece interesante profundizar en el estudio de los microorganismos marinos como fuente de nuevas moléculas bioactivas. En los últimos años se han desarrollado diversas estrategias para el descubrimiento de nuevos productos naturales crípticos, mediante la exploración y expresión de genes silenciados. Una de ellas sería introducir cambios en las condiciones de cultivo del microorganismo, tales como nutrientes, temperatura, salinidad, aireación o incluso la forma del matraz, para favorecer la producción y el descubrimiento de nuevos compuestos, lo que se conoce como aproximación OSMAC (*One Strain Many Compounds*).

En este trabajo de fin de máster nos planteamos la búsqueda de nuevos productos naturales con actividad farmacológica a partir del estudio metabólico del actinomiceto *Streptomyces sanyensis*, aislado de sedimentos de la zona del intermareal de la Bahía de Cádiz.

En primer lugar, se llevará a cabo una revisión bibliográfica sobre los metabolitos aislados a partir de actinomicetos del género *Streptomyces*, lo que nos dará una idea de la diversidad de las estructuras y actividades biológicas que exhiben. Dicha revisión consistirá en realizar una recopilación de artículos que hayan sido publicados hasta la fecha, relacionados con los compuestos aislados de especies del género *Streptomyces* y su posible potencialidad biomédica, analizando los datos publicados sobre las actividades biológicas que presenten. Para ello se utilizará la herramienta de búsqueda bibliográfica Sci Finder. Posteriormente, abordaremos la fermentación del actinomiceto *Streptomyces sanyensis* bajo diferentes condiciones de cultivo que nos permitan inducir la expresión de grupos de genes biogénicos silenciados, con el fin de obtener nuevos compuestos bioactivos que puedan ser utilizados como compuestos cabezas de serie en el diseño y síntesis de nuevos fármacos. En concreto, se llevarán a cabo fermentaciones del microorganismo en diferentes medios sólidos y a diferentes tiempos, con el fin de determinar las condiciones óptimas que conduzcan a un mayor número de metabolitos.

10. APENDICES

Titulo	Cepa	Medio de Cultivo	Tiempo de Cto (días)	Molécula	Familia Estructural	ATC	Actividad Biológica	Diana Terapéutica
Mycenolide A, new butenolide from a marine sediment-derived bacterium <i>Streptomyces</i> sp. 4054	<i>Streptomyces</i> sp. 4054	Marine 1	14	Micelonida A	Ac Cinámico	J	Antibiótico	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Escherichia coli</i> UBC 8161, <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA, ATCC33591, <i>Bacillus subtilis</i> H344 and <i>Candida albicans</i> ATCC 90028
A New Polyketide Antibiotic from the Marine Bacterium <i>Streptomyces</i> sp. PGC	<i>Streptomyces</i> sp. PGC	No Denominado	3	Arabomicina	Policétidos	J	Antibiótico	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Enterobacter</i> sp.
Characterization of a Potential beta-Lactamase Inhibitory Metabolite from a Marine <i>Streptomyces</i> sp. PM49 Active Against Multidrug-Resistant Pathogens	<i>Streptomyces</i> sp. PM49	ISP 2	10	Cyslabdan	Policétidos	J	Antibiótico	<i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i> , <i>S. aureus</i>
Synthesis, structure and antimicrobial activity of novel metabolites from a marine actinomycete in Vietnam's east sea	<i>Streptomyces</i> sp. G212	A1	21	Grupo esteres (benzoato)	Ac Cinámico	J	Antibiótico	<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC7853), <i>Salmonella enterica</i> (ATCC12228), <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC13124), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC25923), <i>Bacillus cereus</i> (ATCC13245), and antifungal activity against <i>Candida albicans</i> (ATCC1023)
Hormaomycins B and C: New antibiotic cyclic depsipeptides from a marine mudflat-derived <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. SNM55	YEME (Caldo)	10	Hormaocinas B-C (pirrol)	Alcaloides	J	Antibiótico	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633, <i>Kocuria rhizophila</i> NBRC 12708, <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615, <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC10031, <i>Salmonella enterica</i> ATCC 14028, <i>Proteus hauseri</i> NBRC 385, <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922

New spirotetronate antibiotics, lobophorins H and I, from a South China Sea-derived <i>Streptomyces</i> sp. 12A35	<i>Streptomyces</i> sp. 12A35	Patata Dextrosa	7	Loboporinas H-I	Policétidos	J	Antibiótico	<i>Bacillus subtilis. Staphylococcus aureus</i>
Production, purification and characterization of an antimicrobial compound from marine <i>Streptomyces coeruleorubidus</i> BTSS-301	<i>Streptomyces coeruleorubidus</i> BTSS-301	No Denominado	4	Acetamida (ceramida)	Policétidos	J	Antibiótico	<i>E. coli, B. cereus. A. flavus, C. albicans</i>
Two new piperazine-triones from a marine-derived <i>Streptomyces</i> sp. strain SMS636	<i>Streptomyces</i> sp. strain SMS636	ISP2	10	Estreptonigrina (imidazol)	Alcaloides	J	Antibiótico	<i>S. aureus</i> (ATCC 6538), <i>MRSA</i> (ATCC 29213), <i>E. coli</i> (ATCC 11775), <i>P. aeruginosa</i> (ATCC 15692), <i>BCG</i> (<i>Bacillus Calmette Guérin</i> - TB), and <i>C. albicans</i> (ATCC 10231)
Extraction and identification of gancidin W from marine <i>Streptomyces</i> sp. VITLGK012	<i>Streptomyces</i> sp. VITLGK012	ISP1	7	Gancidina W	Alcaloides	J	Antibiótico	<i>Proteus vulgaris</i>
New anti-infective cycloheptadepsipeptide congeners and absolute stereochemistry from the deep sea-derived <i>Streptomyces drozdowiczii</i> SCSIO 10141	<i>Streptomyces drozdowiczii</i> SCSIO 10141	No Denominado	7	Marfomicina A - F (cycloheptadepsipeptides)	Alcaloides	J	Antibiótico	<i>Micrococcus luteus.</i>
New Ikarugamycin Derivatives with Antifungal and Antibacterial Properties from <i>Streptomyces zhaozhouensis</i>	<i>Streptomyces zhaozhouensis</i>	APM9-Modificado	6	Ikarugamicina	Alcaloides	J	Antibiótico*	<i>Aspergillus fumigatus, Candida albicans, methicillin-resistant Staphylococcus aureus</i>
Farnesides A and B, Sesquiterpenoid Nucleoside Ethers from a Marine-Derived <i>Streptomyces</i> sp., strain CNT-372 from Fiji	<i>Streptomyces</i> sp. CNT-372	No Denominado	7	Farsenide A-B (sesquiterpeno)	Terpenos	P	Anti-parasitario	<i>Plasmodium falciparum</i>

Actinoramide A Identified as a Potent Antimalarial from Titrationbased Screening of Marine Natural Product Extracts	<i>Streptomyces ballenaensis</i> <i>Streptomyces bangulaensis</i>	ISP 2	30	Actinoramida	Alcaloides	P	Anti-parasitario	<i>Plasmodium falciparum</i>
Binding and molecular dynamic studies of sesquiterpenes (2R-acetoxymethyl-1,3,3-trimethyl-4t-(3-methyl-2-buten-1-yl)-1t-cyclohexanol) derived from marine <i>Streptomyces</i> sp VITJS8 as potential anticancer agent	<i>Streptomyces</i> sp. VITJS8	Caldo Caseína	7	Benzodioxizol	Ac Cinámico	L	Anti-cancerígeno, Antioxidante	Región activa de topoisomerase-2 α
A new bioactive aminophenoxazinone alkaloid from a marine-derived actinomycete	<i>Streptomyces</i> sp. Eg25	No Denominado	3	Maroxazinona-venezuelina D	Alcaloides	L	Anti-cancerígeno	Línea celular de: carcinoma de mama (MCF7), hígado (HEPG2) y colon (HCT116)
Streptenols F-I Isolated from the Marine-Derived <i>Streptomyces misionensis</i> BAT-10-03-023	<i>Streptomyces misionensis</i>	No Denominado	7	Estreptenol F-I	Terpenos	L	Anti-cancerígeno	Líneas de células tumorales A-549 (pulmón), HT-29 (colon), MDA-MB-231 (mama) y PSN1 (páncreas)
Benzoyloxy-ethyl-carbamic acid: A novel anticancerous secondary metabolite produced by <i>Streptomyces globosus</i> VITLKG011	<i>Streptomyces globosus</i> VITLKG011	ISP1	7	benzoyloxy-ethyl-carbamic acid (BECA)	Policétidos	L	Anti-cancerígeno, Anti-proliferativo	Líneas celulares de cáncer de seno (MCF7), colon (Células HCT116), glioblastoma (Células LN18) y ovario (Células PA1)
Salternamide E from a saltern-derived marine actinomycete <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp HK10	YEME	5	Salternamida E	Policétidos	L	Anti-cancerígeno, citotóxico	Líneas celulares de Cáncer de pulmón humano (A549), cáncer de colon, (HCT116), cáncer de estómago (SNU638), leucemia (K562), cáncer de hígado (SK-HEP-1) y cáncer de mama (MDA-MB-231)

Evaluation on Anticancer Effect Against HL-60 Cells and Toxicity in vitro and in vivo of the Phenethyl Acetate Isolated from a Marine Bacterium <i>Streptomyces griseus</i>	<i>Streptomyces griseus</i>	No Denominado	20	Phenethyl acetate	Terpenos	L	Anti-cancerígeno, Anti-proliferativo	HL-60 (células de leucemia promielocítica humana)
Cytotoxic indolocarbazoles alkaloids from the <i>Streptomyces</i> sp. A65	<i>Streptomyces</i> sp. A65	Gause	50	Derivados de Estaurosporina	Alcaloides	L	Anti-cancerígeno, citotóxico, inhibición enzimática	Célula PC-3 (Cancer de prostata), proteína quinasa C y tirosina quinasa de Bruton
Sharkquinone, a new anaquinonoid tetracene derivative from marine-derived <i>Streptomyces</i> sp EGY1 with TRAIL resistance-overcoming activity	<i>Streptomyces</i> sp EGY1	Caldo Waksman	4	Sharquinona	Policétidos	L	Anti-cancerígeno, inductor de apoptosis	Ligando inductor de apoptosis del factor de necrosis tumoral de la tirosinasa (TRAIL) en células de adenocarcinoma gástrico humano (AGS).
Polyethers isolated from the marine actinobacterium <i>Streptomyces cacaoi</i> inhibit autophagy and induce apoptosis in cancer cells	<i>Streptomyces cacaoi</i>	M6	10	Acido arenarico	Policétidos	L	Anti-cancerígeno, inductor de apoptosis	CaCo-2 (cáncer de colon), HeLa, PC-3 y A549.
Lactomycins A-C, Dephosphorylated Phoslactomycin Derivatives That Inhibit Cathepsin B, from the Marine-Derived <i>Streptomyces</i> sp. ACT232	<i>Streptomyces</i> sp. ACT232	ISP2	10	Lactomicinas A-C	Policétidos	L	Anti-cancerígeno, inhibidor enzimático	catepsina B
Antitumor actinopyranones produced by <i>Streptomyces albus</i> POR-04-15-053 isolated from a marine sediment	<i>Streptomyces albus</i>	No Denominado	5	Actinopirana (quinona terpénica)	Ac Cinámico	L	Antitumoral	Seno, colon y pulmón
Novel 1,3-Benzodioxole From Marine-Derived Actinomycete in East Vietnam Sea	<i>Streptomyces</i> sp. G261	A1	10	1,3-benzodioxole	Alcaloides	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Actividad antimicrobiana contra <i>Enterococcus faecalis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> , inhibición contra 4 líneas celulares cancerosas, KB (carcinoma epidérmico de la nasofaringe), LU-1 (adenocarcinoma de

								pulmón), HepG-2 y MCF-7 (cáncer de mama).
Taxonomic characterization and antimicrobial compound production from <i>Streptomyces chumphonensis</i> BDK01 isolated from marine sediment	<i>Streptomyces chumphonensis</i> BDK01	PM1	7	Salicyl alcohol, N-phenyl benzamide. 6-Octadecenoic acid, (Z), 1,3,5-Cycloheptatriene	Mixto	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> MTCC 3160, <i>Bacillus pumilus</i> NCIM 2327, <i>S. aureus</i> (methicillin resistant), <i>Escherichia coli</i> MTCC 1698, <i>E. coli</i> (ESBL), <i>Shigella flexneri</i> MTCC 1457, <i>Proteus vulgaris</i> and <i>Enterobacter cloacae</i> . Línea celular MCF-7.
Ala-geninthiocin, a new broad spectrum thiopeptide antibiotic, produced by a marine <i>Streptomyces</i> sp. ICN19	<i>Streptomyces</i> sp. ICN19	HZI 5254	5	Ala-genintiocina (macrolido)	Alcaloides	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Antimicrobiana contra <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i> , <i>Micrococcus luteus</i> , <i>Chromobacterium violaceum</i> , <i>Candida albicans</i> , <i>Pichia anomala</i> , and <i>Mucor hiemalis</i> , Citotoxicidad contra la línea celular de cáncer de pulmón (A549).
Structure elucidation and biosynthetic gene cluster analysis of caniferolides A-D, new bioactive 36-membered macrolides from the marine-derived: <i>Streptomyces caniferus</i> CA-271066	<i>Streptomyces caniferus</i> CA-271066	APM9 Modificado	6	Caniferolida A-C (macrolidos)	Policétidos	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	<i>Candida albicans</i> y <i>Aspergillus fumigatus</i> alongside, Actividad antiproliferativa contra las siguientes líneas celulares tumorales: Pulmón (A549), Piel (A2058), Hígado (HepG2), Mama (MCF-7) y Páncreas (MiaPaca-2)
New polycyclic tetramate macrolactams from marine-derived <i>Streptomyces</i> sp. SCSIO 40060	<i>Streptomyces</i> sp. SCSIO 40060	Varios (Modificados AM6, AM6e4, ISP3, R5)	7	Derivados ikarugamicin: epoxyikarugamicin, capsimycin, capsimycin C, and three new PTMs, hydroxyikarugamicins A-C	Mixto	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Antimicrobiana contra <i>S. aureus</i> SARM, Citotoxicidad contra las líneas celulares NCI-H460 (línea celular de cáncer de pulmón), Hep G2 (línea celular de carcinoma de hígado humano) y SF268 (línea celular de glioma humano)

Marinocyanins, cytotoxic bromo-phenazinone meroterpenoids from a marine bacterium from the streptomycete clade MAR4	<i>Streptomyces</i> sp. CNY-960 <i>Streptomyces</i> sp. CNS-284	A1	8	Marinocyanin A	Terpenos	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Antimicrobianas contra <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Candida albicans</i> resistente a anfotericina. Citotoxicidad contra el carcinoma de colon humano HCT-116
Boshramycinones A-C: New anthracyclinones produced by a marine-derived <i>Streptomyces</i> sp.: isolation, structure elucidation and biological activities	<i>Streptomyces</i> sp. Mei	M2	10	Boshramycinones A-C	Policétidos	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	<i>Antimicrobiano frente a Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis, Streptomyces viridochromogenes, Escherichia coli, la microalga Chlorella vulgaris, C. sorokiniana y Scenedesmus subspicatus. Actividad antifúngica contra Mucor miehei.</i>
Antibacterial and antifungal activities of polyketide metabolite from marine <i>Streptomyces</i> sp. AP-123 and its cytotoxic effect	<i>Streptomyces</i> sp. AP-123	ISP2	60	AP 123 (actinomycete metabolite)	Policétidos	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Actividad citotóxica contra células de carcinoma de laringe (HEP2). Antimicrobiana contra <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> Contra <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , contra <i>Candida albicans</i> y hongo filamentoso, <i>Aspergillus niger</i>
New benzoxazine secondary metabolites from an arctic actinomycete	<i>Streptomyces</i> sp. ART5	YEME	5	Arcticoside - C-1027 chromophore	Ac Cinámico	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno	Actividad inhibitoria en la isocitrato liasa de <i>Candida albicans</i> . Citotoxicidad significativa contra las células del carcinoma de mama (MDA-MB231) y las células del carcinoma colorrectal (línea HCT-116)
Thioquinomycins A-D, novel naphthothiophenediones from the marine-derived <i>Streptomyces</i> sp. SS17F	<i>Streptomyces</i> sp. SS17F	Arroz	30	Thioquinomycinas A-D	Policétidos	J-L	Anti-cancerígeno, inhibidor enzimático	Citotoxicidad frente a células NCI-H1975 (epitelial). Actividades inhibitorias contra PKCa y proteína quinasa ROCK2.
Marine-Derived Secondary Metabolite, Griseusrazin A, Suppresses Inflammation through Heme Oxygenase-1 Induction in Activated RAW264.7 Macrophages	<i>Streptomyces griseus</i> subsp. <i>griseus</i>	ISP4	10	Griseusrazin A	Alcaloides	M	Anti-inflamatorio	Regulación de los niveles de expresión de iNOS, COX-2, TNF- α , IL-1 β e IL-6.

QM-HiFSA-Aided Structure Determination of Succinilenes A-D, New Triene Polyols from a Marine-Derived <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp SAK1	YEME	3	Succinilenes A-D	Poliol	M	Anti-inflamatorio	Línea celular de carcinoma gástrico (SNU638). Actividad inhibidora contra la producción de NO
Isolation and structure elucidation of tumescenamides A and B, two peptides produced by <i>Streptomyces tumescens</i> YM23-260	<i>Streptomyces tumescens</i> YM23-260	No Denominado	7	Tumescenamida (ciclodispeptido)	peptido	N	Neuro-inflamatorio (reguladora enzimática)	Cerebro (Alzheimer)
Novel compound derived from <i>Streptomyces</i> for treating neurodegenerative disease.	<i>Streptomyces mihaensis</i>	No Denominado	-	2H-Furo[4,3,2-cd]benzofuran-2a(3H)-ol, 4a-(3E,5E)-3,5-heptadien-1-ylhexahydro-, (2aS,4aS,7aS,7bR)-	Policétidos	N	Neuro-inflamatorio (reguladora enzimática)	Efecto inhibidor de NO producto en microglía BV-2 estimulada con LPS
Abyssomicin Monomers and Dimers from the Marine-Derived <i>Streptomyces koyangensis</i> SCSIO 5802	<i>Streptomyces koyangensis</i>	A1	6	Neoabyssomicinas D-E Dimeric neoabyssomicinas F-G	Policétidos	J	Antibiótico	Contra <i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina y el virus de la estomatitis vesicular
Suncheonosides A-D, Benzothioate Glycosides from a Marine-Derived <i>Streptomyces</i> sp.	<i>Streptomyces</i> sp. SSC21	K	5	Suncheonosidas A-D	Policétidos	A	Antidiabético	Adipogénesis en células madre mesenquimales humanas.
Isolation, characterization, and structural elucidation of 4-methoxyacetanilide from marine actinobacteria <i>Streptomyces</i> sp. SCA29 and evaluation of its enzyme inhibitory, antibacterial, and cytotoxic potential	<i>Streptomyces</i> sp. SCA29	ISP 2	21	4-methoxyacetanilide (acetamida)	Policétidos	J-L	Antibiótico, Anti-cancerígeno, Inhibidor enzimático.	Inhibición enzimática de α -glucosidasa y α -amilasa. Antimicrobiano contra <i>L. monocytogenes</i> , <i>K. pneumonia</i> , <i>S. typhi</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> . HT-29, Actividad frente a líneas celulares HT-29 (cáncer de colon), MDA (cáncer de mama) y células Hep-2 (derivado del epitelio humano)

	Benzoxacystol, a benzoxazine-type enzyme inhibitor from the deep-sea strain <i>Streptomyces</i> sp NTK 935	<i>Streptomyces</i> sp NTK 935	Complex	3	benzoxacystol	Ac Cinámico	L	Inhibidor enzimático, Anti-proliferativo	Inhibidor del enzima glucógeno sintasa quinasa 3b. Actividad antiproliferativa contra las células de fibroblastos de ratón.